



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E
NUCLEARES

ROSEMBERG DE VASCONCELOS BEZERRA

**FIXAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE NITROGÊNIO EM CULTIVOS
CONSORCIADOS DE SORGO E LEGUMINOSAS**

Recife

2022

ROSEMBERG DE VASCONCELOS BEZERRA

**FIXAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE NITROGÊNIO EM CULTIVOS
CONSORCIADOS DE SORGO E LEGUMINOSAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito para obtenção do título de doutor em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Área de Concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio

Coorientadora: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

Recife

2022

Catálogo na fonte:
Bibliotecário Carlos Moura, CRB-4/1502

B574f Bezerra, Rosemberg de Vasconcelos.
Fixação e transferência de nitrogênio em cultivos consorciados de sorgo e leguminosas. / Rosemberg de Vasconcelos Bezerra. – 2022.
83 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio.
Coorientadora: Profa. Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2022.
Inclui referências.

1. Agricultura e tecnologias correlatas. 2. *Sorghum bicolor*. 3. Semiárido.
4. Biomassa. 5. Fixação biológica do nitrogênio. 6. ¹⁵N. I. Sampaio, Everardo Valadares de Sá Barretto (orientador). II. Freitas, Ana Dolores Santiago de (coorientadora). III. Título.

630 (22. ed.)

UFPE
BCTG/2023-34

ROSEMBERG DE VASCONCELOS BEZERRA

**FIXAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE NITROGÊNIO EM CULTIVOS
CONSORCIADOS DE SORGO E LEGUMINOSAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito para obtenção do título de doutor em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Área de Concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

Aprovado em 27/01/2022

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco - DEN/UFPE

Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco - DEPA/UFRPE

Dr. Paulo Ivan Fernandes Júnior (Examinador Externo)
Embrapa Semiárido - CPATSA

Dr. Dário Costa Primo (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - DEN/UFPE

Dr. Uemeson José dos Santos (Examinador Externo)
Instituto Federal do Pará - IFPA

A Deus, Jesus Cristo e todos os Santos, sempre.

Aos meus pais Pedro e Luzia, meus exemplos de vida e a razão por estar vivendo este momento.

Aos meus irmãos Pedro Júnior, Gutemberg e Daniel, as pessoas mais iluminadas neste mundo.

A minha esposa Danielle Alves, minha flor das flores.

A minha eterna Orientadora e Prof^a Carolina Etienne, minha inspiração humana e profissional.

Aos meus amigos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Jesus de Nazaré, que sempre me abriu janelas quando as portas se fechavam, por me mostrar a luz nos momentos difíceis da minha vida e por colocar no meu caminho pessoas especiais.

Aos meus estimados pais Pedro Alves Bezerra e Luzia de Vasconcelos Bezerra, por toda simplicidade, pela educação, conselhos e apoio em meus projetos de vida.

Aos meus irmãos e exemplos de seres humanos, que juntos com meus pais me proporcionaram viver este momento.

A minha querida esposa e companheira Danielle Alves, meu porto seguro sempre, pela dedicação e compreensão.

A minha segunda mãe e sogra Dona Nelcí Alves, por todas as orações e incentivo em continuar nos momentos de cansaço.

Aos meus cachorrinhos e gatos, pela amizade incondicional e companhia incansável principalmente na escrita deste trabalho e por fazer cada dia de minha vida mais feliz.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares por conceder-me a realização do sonho de ter estudado nesta academia de ensino e pesquisa científica.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco *Campus* Belo Jardim, instituição que tenho orgulho e honra em servir. Meu agradecimento especial aos Diretores Francisco das Chagas Lino Lopes e Marcos Antônio Germano do Nascimento, por abrir as portas e por todo apoio na instalação e condução do experimento.

Ao Prof.º Everardo Sampaio pela orientação incansável e a confiança que tornaram possível a realização deste sonho. Foi uma honra ter recebido sua orientação e foi o meu segundo sonho realizado.

A minha Coorientadora e amiga Prof.ª Ana Dolores Santiago de Freitas pelo aprendizado transmitido, competência, conversas, conselhos, insistência, cobranças e por não desistir de mim. Foram suas as palavras que me fizeram continuar, “*Não tenha medo de começar novamente. Desta vez, você não está começando do zero, está partindo de uma experiência*”. Aqui lhe exprimo a minha eterna gratidão.

Aos membros de todas as bancas passadas até este dia, Professores Rômulo Simões, José Nildo Tabosa, Emanuel Damilano, Carolina Etienne, Ana Dolores, Dário Primo e Paulo Ivan por toda contribuição científica para este trabalho.

Em especial a Prof.^a Carolina Etienne Santos pela amizade, paciência e apoio incondicional em todos os momentos, por todo aprendizado transmitido e por sua empatia e compaixão.

Ao amigo e amiga do PROTEN, Uemesson Santos e Natache Ferrão por todo apoio. Em especial a minha grande e estimada amiga Edilândia Dantas pelo apoio, ombro amigo e por não medir esforços em me ajudar.

A todos que fazem parte do Laboratório de Engenharia Ambiental (LEA) Núcleo de Tecnologia do Campus Agreste da UFPE por abrirem as portas do laboratório, e pelo enorme carinho e apoio prestado. Em especial aos meus grandes e estimados amigos Agilson Nascimento de Souza e Henrique Sérgio Santos de Lira pelo apoio e calorosa convivência.

Aos amigos e amigas do Curso Técnico em Agropecuária do IFPE *Campus* Belo Jardim, Elmair Silva, Vitória Andrade, Cássia Nascimento, Marcos Roberto e Mateus Araújo que tornaram este trabalho possível, sem vocês nada disso seria concretizado.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente, tenham contribuído para realização deste trabalho.

Meu muito obrigado!

Desde a descoberta dos microrganismos no século XVII por Anton van Leeuwenhoek (descobridor do microscópio), a importância destes seres diminutos vem sendo revelada a cada dia pela ciência. Eis a declaração de Louis Pasteur, um dos mais importantes microbiologistas (Dubos, 1967b, p. 57):

“O papel dos infinitamente pequenos é infinitamente grande”

RESUMO

Os principais fatores limitantes da produtividade agrícola na região semiárida, depois da restrição hídrica, são as deficiências de N e de P. Estes nutrientes tornam-se ainda mais indisponíveis devido as retiradas pelas culturas, queima da vegetação e/ou resíduos vegetais, desequilíbrio entre elementos e aos processos de volatilização, lixiviação e erosão. Em sistemas agrícolas de subsistência, como os praticados predominantemente no semiárido, a FBN contribui para aumentar a entrada de N e, conseqüentemente, aumentar a disponibilidade de N no solo. O projeto foi instalado no *Campus* Belo Jardim do Instituto Federal de Pernambuco objetivando avaliar a fixação biológica do nitrogênio (FBN) e a transferência de N entre espécies, em cultivos consorciados e solteiros de sorgo e leguminosas., durante dois ciclos de cultivo de sorgo. Também foram estudados os efeitos da aplicação de doses de molibdênio. O experimento constou de um fatorial de dois níveis de aplicação de molibdênio (0 e 1,6 kg/ha) e cinco sistemas de cultivo: 1) cultivo solteiro de sorgo; 2, 3 e 4) consórcio desta variedade de sorgo com cada uma de três espécies de leguminosas (crotalária, *Crotalaria juncea* L.; feijão de porco, *Canavalia ensiformis* L. DC; e feijão macassa, *Vigna unguiculata* L. Walp); e 5), sorgo consorciado com girassol (*Helianthus annuus* L), utilizado como espécie referência para estimativa da transferência de N das leguminosas para o sorgo. Não houve benefício da aplicação de molibdênio para o sorgo. A FBN contribuiu com 23% (6,0 kg/ha) e 28% (4,6 kg/ha) do N nas plantas de sorgo, no primeiro e segundo ciclo, e 86% a 93% de N nas leguminosas (54 a 143 kg/ha), plantadas apenas no primeiro ciclo. A crotalária consorciada contribuiu com 25,7% (2,4 kg/ha) do N de sorgo, enquanto as transferências das outras leguminosas não foram detectáveis. No segundo ciclo, a contribuição dos resíduos das leguminosas para o N de sorgo também não foram detectáveis. Portanto, a FBN do sorgo e o benefício do consórcio com leguminosas foram confirmados.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*; semiárido; biomassa; FBN; 15N.

ABSTRACT

The main factors limiting the agricultural productivity in the semi-arid region, after water the deficit, are N and P deficiencies. They are more unavailable due to export by the crops, the burning the vegetation and/or crop residues, the unbalance among the elements and the processes of volatilization, leaching and erosion. Among the subsistence agricultural systems, such as those common in the Brazilian semi-arid region, BNF contributes to increase N inputs, and, consequently, its availability. This project was carried out at the Belo Jardim campus of the Federal Institute of Pernambuco to evaluate the biological nitrogen fixation (BNF) of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) and consortiated legume species and the transfer of N from the legumes to the sorghum, during two sorghum cultivation cycles. The effects of molybdenum application were also studied. The experiment consisted of a factorial of two molybdenum doses (0 and 1.6 kg/ha) and five cropping systems: 1) single crop of sorghum; 2, 3 and 4) intercropping of sorghum with each of three legume species (sunn hemp, *Crotalaria juncea* L.; jack bean, *Canavalia ensiformis* L. DC; and cowpea, *Vigna unguiculata* L. Walp); and 5), sorghum intercropped with sunflower (*Helianthus annuus* L), used as a reference species to estimate of N transfer from legumes to sorghum . Molybdenum application had no effect on sorghum and legume growth and on BNF. BNF accounted for 23% (6.0 kg/ha) and 28% (4.6 kg/ha) of sorghum N, in the first and second cycle, and 86 to 93% of N in the legumes (54 to 143 kg/ha), planted only in the first cycle. Intercropped sunn hemp transference accounted for 25.7% (2.4 kg/ha) of sorghum N, while transfers from the other legumes were not significantly detectable. In the second cycle, the contribution of the legume residues to sorghum N were also undetectable. Therefore, sorghum BNF and the benefit of legume intercropping are confirmed.

Keywords: *Sorghum bicolor*; semiarid; biomass; BNF; 15N.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	A região semiárida delimitado em vermelho, dentro da região Nordeste do Brasil e incluindo parte do norte de Minas Gerais, da região Sudeste.	22
Figura 2 -	Precipitação pluvial média anual do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.	24
Figura 3 -	Evaporação hídrica anual (tanque de água classe A) do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.	25
Figura 4 -	Temperatura do ar média anual do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.	26
Figura 5 -	Umidade relativa do ar média anual do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.	27
Figura 6 -	Comparativo dos países produtores de grãos de sorgo nos anos de 2015 e 2016.	28
Figura 7 -	Comparativo da produção de grão de sorgo dos principais estados produtores de sorgo granífero no Brasil nas safras 2015/16 e 2016/17.	29
Figura 8 -	Representação esquemática da absorção e assimilação do nitrato pelas plantas (assimilação nas folhas).	34
Figura 9 -	Detalhes da localização da área experimental. IFPE, Belo Jardim (PE). 2021.	43
Figura 10 -	Mapa da localização geográfica da área de estudo localizado no <i>Campus</i> do IFPE (Instituto Federal de Pernambuco) no município de Belo Jardim.	44
Figura 11 -	Dimensões da grade amostral.	45
Figura 12 -	Arranjo amostral para mapeamento do pH do solo.	46
Figura 13 -	Representação esquemática da área experimental com distribuição dos tratamentos.	49
Figura 14 -	Visão panorâmica da área experimental.	49
Figura 15 -	Visão panorâmica das parcelas experimentais e distribuição dos tratamentos.	50
Figura 16 -	Esquema de uma parcela experimental em cultivo consorciado.	51
Figura 17 -	Imagem panorâmica das parcelas experimentais em cultivos consorciados.	52

- Figura 18 - Plantas de sorgo marcadas para avaliações biométricas. IFPE, Belo Jardim (PE). 2021. 53
- Figura 19 - Avaliações biométricas de diâmetro de colmo e altura de plantas de sorgo. IFPE, Belo Jardim (PE). 2021. 53
- Figura 20 - Altura de plantas (m) de sorgo IPA 467, aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio (DAP), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019. 59
- Figura 21 - Diâmetro do colmo (cm) de sorgo IPA 467, aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio (DAP), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019. 60
- Figura 22 - Altura de plantas (m) de sorgo IPA 467, aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019. 67
- Figura 23 - Diâmetro do colmo (cm) de sorgo IPA 467, aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019. 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Ocorrências de associações de diazotróficos com plantas de sorgo.	38
Tabela 2 -	Resultados da análise química de amostras de solo coletado entre 0 e 20 cm de profundidade na área experimental, antes da semeadura. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	47
Tabela 3 -	Resultados da análise física de amostras de material de solo coletado entre 0 e 20 cm de profundidade na área experimental utilizada, antes da semeadura. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	48
Tabela 4 -	Valores de p das análises de variâncias para altura de plantas aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	58
Tabela 5 -	Valores de p das análises de variâncias para diâmetro do colmo aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	58
Tabela 6 -	Valores de p das análises de variâncias para biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa das plantas de sorgo sob diferentes formas de cultivo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.	61
Tabela 7 -	Biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa das plantas de sorgo em diferentes sistemas de cultivo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	61
Tabela 8 -	Valores de p das análises de variâncias para biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C fixado das diferentes espécies utilizadas no consorcio com sorgo aos 90 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	62
Tabela 9 -	Biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa de leguminosas consorciadas com sorgo aos 90 dias após o plantio. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	62
Tabela 10 -	Valores de p das análises de variâncias para $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N _{dda}) e N fixado das diferentes espécies utilizadas no consorcio com sorgo aos 90 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	63

Tabela 11 -	Valores de $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N _{dda}) e N fixado (kg ha ⁻¹) das diferentes espécies utilizadas em consórcio com sorgo aos 90 dias após o plantio. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	64
Tabela 12 -	Valores de p das análises de variâncias para $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N _{dda}), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	65
Tabela 13 -	Valores de $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N _{dda}), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	65
Tabela 14 -	Valores de p das análises de variâncias para altura de plantas aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	66
Tabela 15 -	Valores de p das análises de variâncias para diâmetro do colmo aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	66
Tabela 16 -	Valores de p das análises de variâncias para biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa das plantas de sorgo no segundo ciclo sob diferentes formas de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.	69
Tabela 17 -	Biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C fixado das plantas de sorgo no segundo ciclo sob diferentes formas de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.	69
Tabela 18 -	Valores de p das análises de variâncias para $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N _{dda}), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo no segundo ciclo de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.	71
Tabela 19 -	Valores de $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N _{dda}), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo no segundo ciclo de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
*	Significativo a 5% de probabilidade
**	Significativo a 1% de probabilidade
‰	Por mil
¹³ C	Carbono com número de massa atômica 13
¹⁴ N	Nitrogênio com número de massa atômica 14
¹⁵ N	Nitrogênio com número de massa atômica 15
¹⁵ NH ₄ ¹⁵ NO ₃	Nitrato de amônio marcado
A	Número de massa atômica
Al ³⁺	Alumínio
ANAVA	Análise de variância
AP	Altura de plantas
ATP	Adenosina trifosfato
B	Valor de $\delta^{15}\text{N}$ para plantas fixadoras cultivadas a ausência de N ₂ atmosférico
BSPA	Biomassa seca da parte aérea
BVPA	Biomassa verde da parte aérea
C	Carbono
C/N	Relação carbono/nitrogênio
Ca ²⁺	Cálcio
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
cm	Centímetro
cm ³	Centímetro cúbico
cmol _c	Centimol de carga
CNTP	Condições normais de temperatura e pressão
CTC	Capacidade de troca catiônica
CV	Coefficiente de variação
DAC	Dias após o corte
Dap	Densidade aparente
DAP	Dias após o plantio
DBC	Delineamento em blocos casualizados
dm ³	Decímetro cúbico
DMS	Diferença mínima significativa

Dp	densidade das partículas
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization
FBN	Fixação Biológica do Nitrogênio
Fe	Ferro
g	Gramas
GS/GOGAT	Glutamato sintase/glutamina sintase
H ⁺	Hidrogênio
ha	Hectare
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFPE	Instituto Federal de Pernambuco
K ⁺	Potássio
KCl	Cloreto de potássio
kg	Quilograma
m	Metro
m	Saturação por alumínio
m ²	Metro quadrado
mg	Miligrama
Mg ²⁺	Magnésio
mm	Milímetro
mm	Milímetros
Mo	Molibdênio
MoO ₄ ⁻²	Anión molibdato
N	Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio na forma de gás atmosférico
Na ⁺	Sódio
Na ₂ MoO ₄	Molibdato de sódio
N _{dda}	Nitrogênio derivado da atmosfera
NH ₃	Amônia
NH ₄ ⁺	Íon amônio
NiR	Enzima nitrito redutase
NO ₃ ⁻	Íon nitrato
NR	Enzima nitrato redutase
NS	Não significativo

°C	Graus Celsius
P	Fósforo
p	Probabilidade
pH	Potencial hidrogeniônico
R	Composição isotópica
SB	Soma de bases
t	CTC efetiva
T	CTC potencial
TFSA	Terra fina seca ao ar
UFC	Unidade formadora de colônia
V	Saturação de bases
δ	Desvio por mil

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	Caracterização física do semiárido brasileiro	21
2.2	Aspectos meteorológico do semiárido brasileiro	23
2.3	A cultura do sorgo	28
2.3.1	Origem e importância do sorgo	28
2.3.2	Tipos agronômicos de sorgo e possibilidades de uso	30
2.3.3	Ecofisiologia do sorgo	31
2.4	Nitrogênio e Molibdênio	32
2.5	Fixação biológica do nitrogênio (FBN)	34
2.6	FBN em gramíneas	35
2.7	FBN em sorgo	37
2.8	Transferência de N para gramíneas em associação com leguminosas	39
2.9	Técnicas isotópicas no estudo do nitrogênio	40
3	MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1	Localização e caracterização da área experimental	43
3.2	Caracterização química e física do solo da área experimental	45
3.3	Experimento 1 (1º ciclo)	48
3.3.1	Parcelas experimentais	50
3.3.2	Avaliação biométrica das variedades de sorgo	52
3.3.3	Avaliação da FBN e da produção de biomassa das leguminosas	53
3.3.4	Estimativas da produção de biomassa da FBN para o sorgo	54
3.3.5	Estimativa da transferência do N fixado nas leguminosas para o sorgo	55
3.3.6	Análise estatística	56
3.4	Experimento 2 (2º ciclo)	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1	Experimento 1 (1º ciclo)	58
4.1.1	Crescimento e produção do sorgo	58
4.1.2	Biomassas e estoques de N e C nas leguminosas e no sorgo	62
4.1.3	Estimativa do N fixado nas leguminosas	63

4.1.4 FBN no sorgo e da transferência de N das leguminosas	64
4.2 Experimento 2 (2º Ciclo de cultivo)	66
4.2.1 Crescimento e produção do sorgo	66
4.2.2 FBN no sorgo e da transferência de N das leguminosas	70
5 CONCLUSÕES	72
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	73
REFERÊNCIAS	74

1 INTRODUÇÃO

Na região semiárida do Nordeste do Brasil, o nitrogênio e o fósforo são os principais elementos limitantes para a nutrição das plantas. Estes nutrientes podem se tornar ainda mais indisponíveis devido às retiradas pelas culturas, à queima da vegetação ou de resíduos vegetais, ao desequilíbrio entre elementos, e aos processos de volatilização, lixiviação e erosão (SAMPAIO et al., 2009). Estes autores destacaram que a fertilização ainda era uma prática pouco comum, na região, e mesmo quando realizada, em determinadas condições, a adubação com N não promove efeito residual do fertilizante. Ainda assim, aplicações de N devem ser consideradas, visto que há resposta na maioria das situações (SAMPAIO et al., 2004).

Desta forma, a manutenção da fertilidade do solo requer estratégias para o manejo o mais eficiente possível dos recursos locais disponíveis (SAMPAIO et al., 2009). Uma alternativa para minimizar a deficiência de N nos sistemas de produção é a inclusão de espécies fixadoras ou o manejo adequado da fixação biológica do nitrogênio (FBN) em culturas fixadoras (principalmente leguminosas, mas também gramíneas) que podem desempenhar um papel crucial na disponibilização de N para as culturas e na manutenção de estoques adequados de nitrogênio no solo (FREITAS et al., 2015).

A FBN é a principal forma de entrada de N em ecossistemas naturais (CLEVELAND et al., 1999). Em sistemas agrícolas de subsistência, como os praticados predominantemente no semiárido brasileiro, a FBN contribui para aumentar as entradas de N e, conseqüentemente, aumentar a disponibilidade de N no solo. O uso de fertilizantes químicos para reposição de nutrientes não é uma prática viável para a grande maioria dos agricultores na região, devido ao alto custo e às incertezas climáticas, que prejudicam as respostas das culturas à sua aplicação (SAMPAIO et al., 2004 e 2009). Assim, as culturas são dependentes do N mineralizado dos restos vegetais e da matéria orgânica do solo, que são rapidamente degradados em consequência das altas temperaturas médias anuais e da alta incidência de raios ultravioleta (PARTON et al., 2007), típicas da região.

A FBN é influenciada pela disponibilidade de nutrientes no solo, com destaque para o molibdênio (Mo) que atua como regulador da enzima nitrogenase, presente em bactérias de vida livre ou associativas, nos diversos tecidos das plantas, reduzindo o N₂ atmosférico a NH₃ (TAULÉ et al., 2011). Alguns estudos mostraram que, mesmo em solos pobres, a FBN pode ajudar a cultura a alcançar produções próximas ao dobro da média atual de produtividade, se os outros nutrientes forem supridos de acordo com as necessidades mostradas pela análise do solo

e se a tecnologia for adequada, usando, entre outras, a aplicação de molibdênio e irrigação (URQUIAGA et al., 1998).

Gramíneas de sistema fotossintético C4 apresentam alta eficiência fotossintética e potencial de alta produção de biomassa. A possibilidade de produção de grande quantidade de biomassa com utilização mínima de fertilizantes nitrogenados, dependentes de energia fóssil para sua fabricação, realça a importância da FBN em gramíneas tropicais. Os isolamentos pioneiros de bactérias fixadoras de N₂ (ou diazotróficas) associadas à cana-de-açúcar (DÖBEREINER & RUSCHEL, 1958) geraram o conceito de que a planta poderia se beneficiar com aportes de N por meio deste processo e um grande interesse por isolamentos de novos micro-organismos. Diversas espécies diazotróficas, principalmente dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* e *Burkholderia*, já foram identificadas colonizando a superfície ou o interior das raízes de sorgo (BERGAMASCHI et al., 2007; LUNA et al., 2010), milho (MONTAÑEZ et al., 2009), e capim elefante (VIDEIRA et al., 2012), entre outras gramíneas tropicais.

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) está entre estas espécies com altas capacidade fotossintética, taxa de crescimento, eficiência do uso de água e interceptação da luz, resultando numa grande capacidade de acumulação de biomassa, podendo ser uma cultura forrageira ou energética, estratégica para cultivo em áreas menos apropriadas para as culturas mais tradicionais. Artigos recentes apontam que o sorgo também pode se beneficiar da absorção de N atmosférico pela simbiose com bactérias diazotróficas (SANTOS et al. 2017; CARVALHO et al. 2017). Além disso, uma abordagem que pode se revelar interessante para se beneficiar do processo de FBN em cultivos de gramíneas C4 é o consórcio com leguminosas entre as fileiras de plantio. Nesses sistemas, parte do N fixado nas leguminosas pode ser transferido para as gramíneas, contribuindo de forma significativa para o aumento dos estoques de N no sistema. Os mecanismos de transferência de N em consórcios com leguminosas não são totalmente conhecidos, havendo apenas evidências da transferência do N de raízes de leguminosas para as culturas associadas (LOUARN et al., 2015).

Desta forma, o objetivo desta tese foi avaliar a fixação biológica em leguminosas e no sorgo e a transferência de N entre espécies, em cultivos consorciados. Também foi objeto de estudo deste trabalho verificar o efeito da aplicação de doses de molibdênio sobre a fixação biológica nestas espécies.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização física do semiárido brasileiro

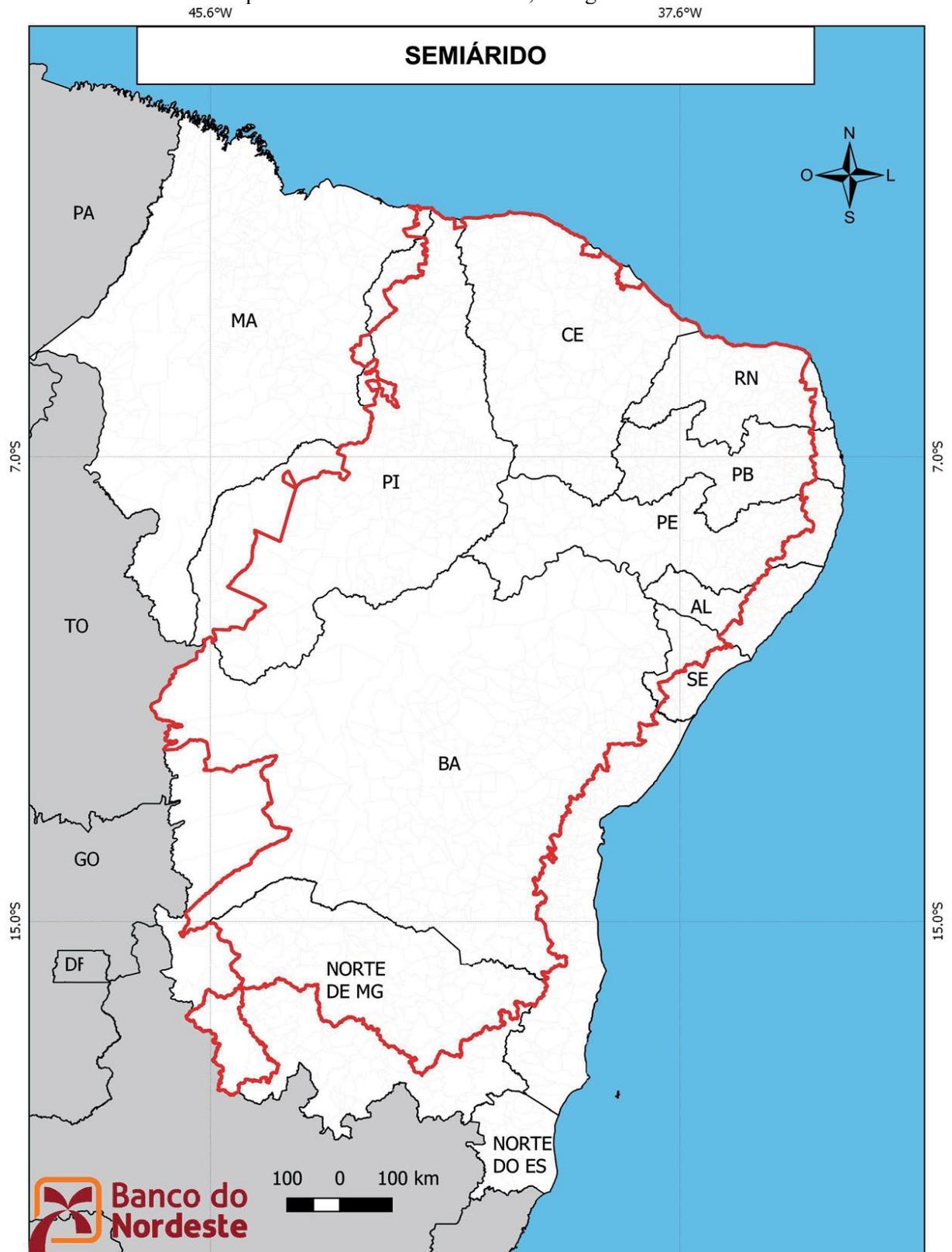
Compondo uma das cinco regiões fisiográficas do Brasil, o Nordeste representa aproximadamente 18,2% da área total do país. Com 1,56 milhão de km² (EMBRAPA, 2007), é formado pelos estados da Bahia, Maranhão, Piauí, Ceará, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Alagoas e Sergipe. Nesta região, encontra-se a maior parte do Semiárido brasileiro, abrangendo 13% do território nacional e abrigando 13,4% da população do país. O Semiárido brasileiro possui uma extensão de 1.128.697 km² que corresponde a 72,5 % do território nordestino, incluindo a parte semiárida de Minas Gerais (XIMENES, et al., 2019). A nova delimitação do semiárido brasileiro apresentada na Figura 1, foi redefinida pelas Resoluções do Conselho Deliberativo da Sudene de nº 107, de 27/07/2017 e de nº 115, de 23/11/2017.

De acordo com essas resoluções para que um município seja considerado pertencente ao semiárido brasileiro deve atender a pelo menos um dos três critérios a seguir:

- i) Precipitação pluviométrica média anual igual ou inferior a 800 milímetros;
- ii) Índice de aridez de até 0,5 calculado pelo balanço hídrico que relaciona as precipitações e a evapotranspiração potencial; e
- iii) Percentual diário de déficit hídrico igual ou superior a 60%, considerando todos os dias do ano.

São ao todo 1.262 municípios, onde vivem quase 28 milhões de pessoas, 38% das quais habitam a zona rural. Porém, tomando-se apenas os municípios interioranos, percebe-se que dois terços da população moram na zona rural (XIMENES, et al., 2019).

Figura 1 - A região semiárida delimitada em vermelho, dentro da região Nordeste do Brasil e incluindo parte do norte de Minas Gerais, da região Sudeste.



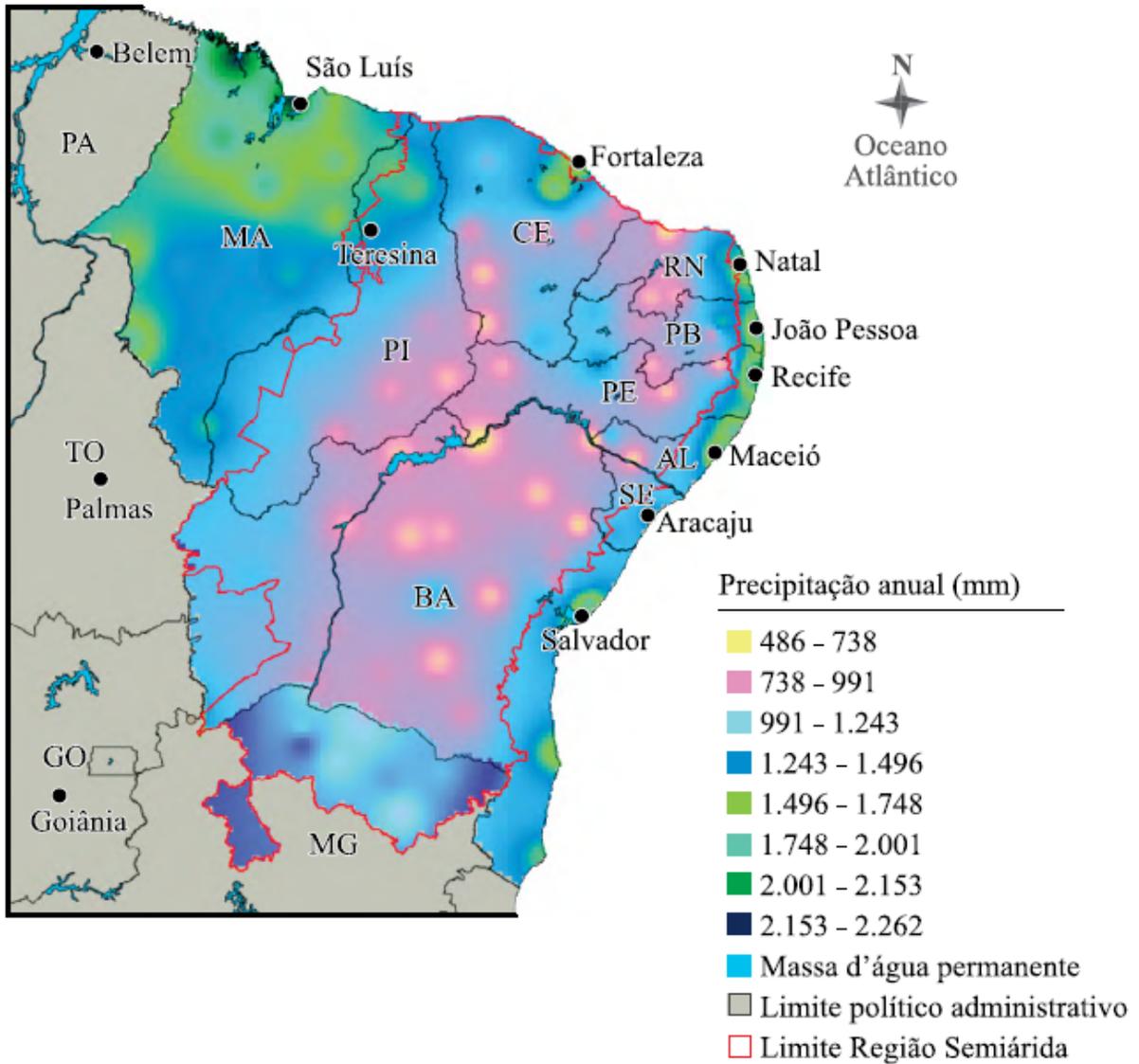
Fonte: IBGE, Malha municipal 2015. Elaboração: BNB, ETENE.

Nota: O limite do semiárido (SÁ; SILVA, 2010) foi ajustado, em parte, no Norte de Minas Gerais e no Norte do Espírito Santo.

2.2 Aspectos meteorológico do semiárido brasileiro

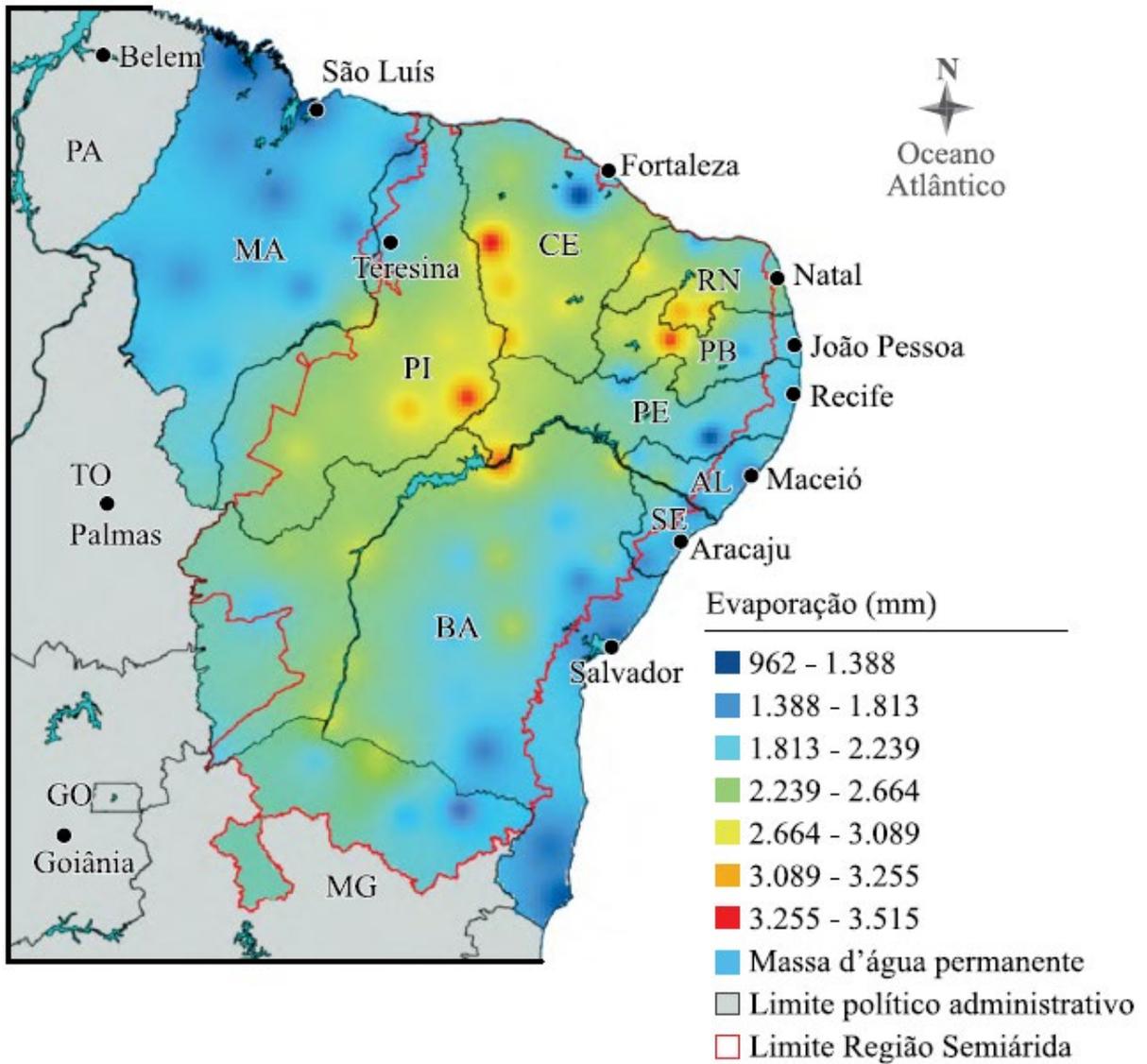
A área de abrangência do Semiárido caracteriza-se pelo clima quente e seco, com precipitações pluviométricas entre 300 e 800 mm, variando, também, as épocas de início e de fim da estação chuvosa. A maior parte das chuvas concentra-se em três a quatro meses, acarretando um balanço hídrico negativo na maioria dos meses do ano (ARAÚJO FILHO, 1992). Outra característica marcante do regime de chuvas na área é a grande variação, tanto na distribuição das precipitações ao longo da estação chuvosa, como nos totais anuais em uma mesma localidade. Há anos nos quais as chuvas se concentram num curto período e outros nos quais a chuva se estende por vários meses e há anos nos quais a precipitação anual alcança valores bem abaixo da média histórica, o que é característico dos chamados anos de 'seca' (ANDRADE, 1999). A insolação média de 2800 h ano⁻¹ é alta, assim como as temperaturas médias anuais de 23° a 27° C e a evapotranspiração potencial ultrapassando 2.000 mm ano⁻¹, enquanto a umidade relativa do ar média é baixa, em torno de 50% (MOURA et al., 2007). As Figuras 2, 3, 4 e 5, apresentam a precipitação média anual, a evaporação anual, a temperatura média anual e umidade relativa do ar no Semiárido brasileiro, no período de 1981 a 2010.

Figura 2 - Precipitação pluvial média anual do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.



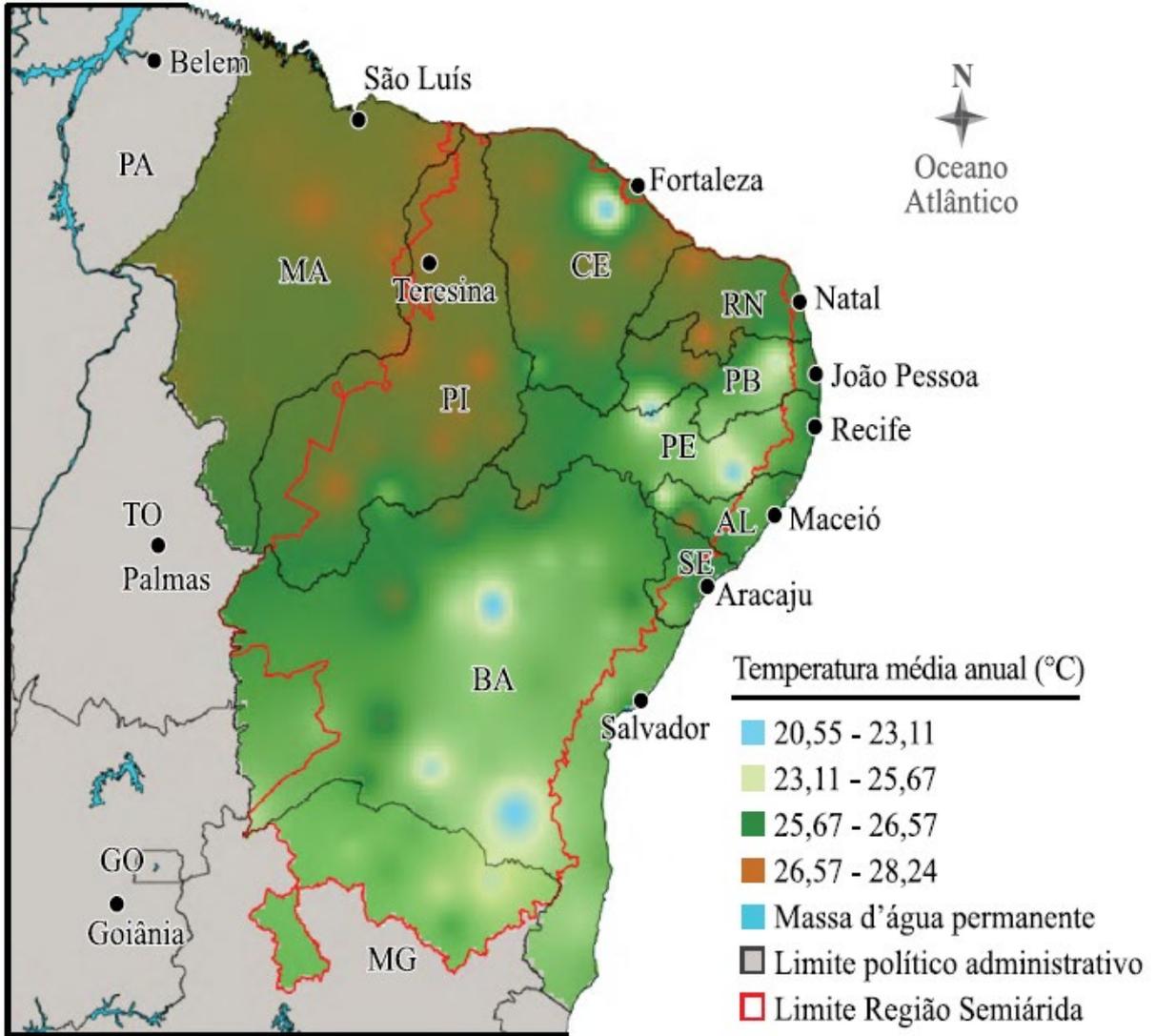
Fonte: Dados do INMET (2019), elaborado por ETENE/Banco do Nordeste.

Figura 3 - Evaporação hídrica anual (tanque de água classe A) do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.



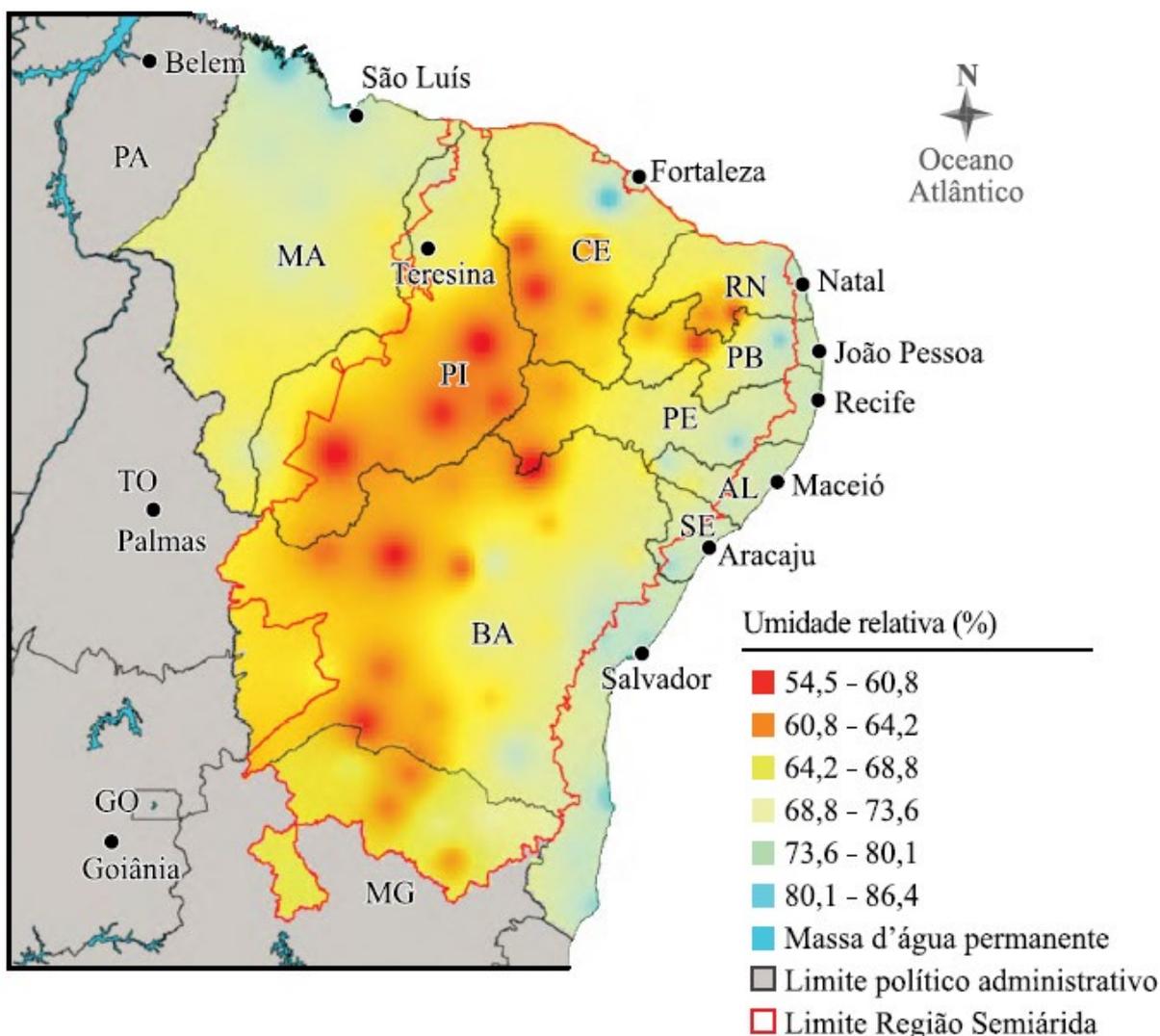
Fonte: Dados do INMET (2019), elaborado por ETENE/Banco do Nordeste.

Figura 4 - Temperatura do ar média anual do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.



Fonte: Dados do INMET (2019), elaborado por ETENE/Banco do Nordeste.

Figura 5 - Umidade relativa do ar média anual do semiárido brasileiro no período de 1981 a 2010.



Fonte: Dados do INMET (2019), elaborado por ETENE/Banco do Nordeste.

Por conseguinte, é difícil estabelecer um sistema de manejo aplicável e previsível. A complexidade deste ecossistema compara-se à infinidade de estratégias desenvolvidas ao longo dos tempos na tentativa de minimizar os efeitos adversos do clima (SILVA et al., 2004).

A atividade agrícola sob condição de semiaridez é pouco intensa e descontínua. Apenas nas áreas irrigadas há produção vegetal intensiva. A agricultura de sequeiro geralmente apresenta baixo nível tecnológico e a preocupação com a aplicação de técnicas de manejo de solos, uso de insumos agrícolas ou monitoramento da fertilidade do solo é incipiente (MATALLO JÚNIOR, 2001).

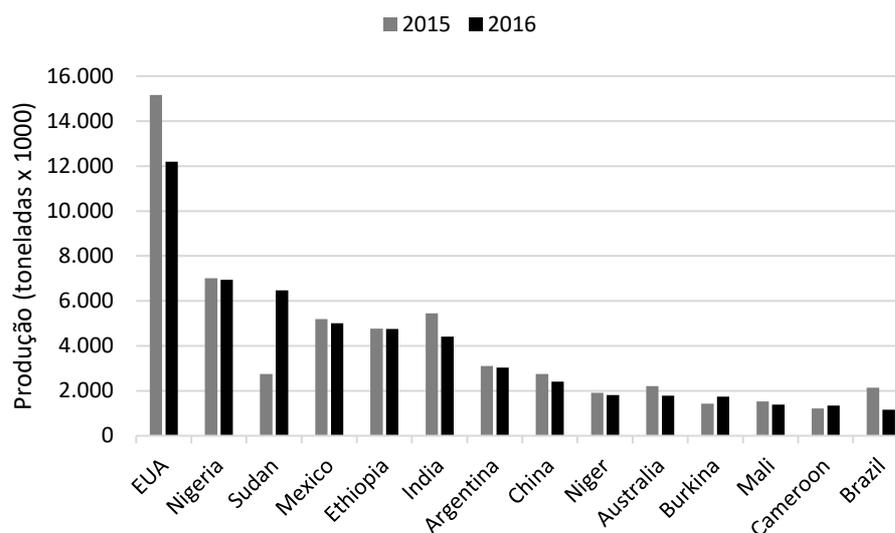
2.3 A cultura do sorgo

2.3.1 Origem e importância do sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma monocotiledônea da família *Poaceae* cultivada em diversas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Algumas evidências apontam que seu centro de origem é na África oriental, mais precisamente na Etiópia e no Sudão, sendo aparentemente difundido pelo mundo através de nativos africanos, que pela ocasião do regime de escravidão no século XVII e XVIII foram levados para diversas partes do mundo, e consigo carregaram as sementes (MARTIN, 1975).

De acordo com dados da FAO, é o quinto cereal mais importante do mundo, ficando atrás do trigo, milho, arroz e cevada (TABOSA, 2020). É cultivado em 40 milhões de hectares, em 109 países da África, Ásia, Oceania e Américas. A Figura 6 apresenta dados dos principais produtores mundiais de sorgo granífero (FAO, 2016). Nesses dados, não estão incluídas as produções de biomassa dos demais tipos de sorgo: forrageiro, sacarino, de duplo propósito, herbáceo, biomassa e vassoura (TABOSA et al., 2013). O sorgo possui características adaptativas que possibilitam seu cultivo em áreas não indicadas para outros cereais. (FORNASIERI FILHO; FORNASIERI, 2009).

Figura 6 - Comparativo dos países produtores de grãos de sorgo nos anos de 2015 e 2016.



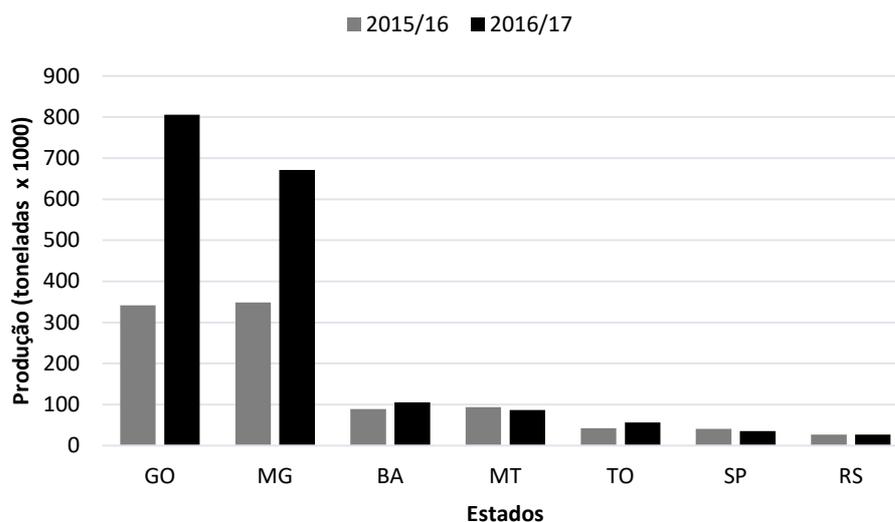
Fonte: Elaboração própria a partir de dados da FAO (2016).

As estimativas de área cultivada desses outros tipos de sorgo são computadas pelo quantitativo de sementes comercializadas: para 10 kg de sementes vendidas há uma

correspondência de um hectare plantado (TABOSA, 2020). Com relação ao sorgo forrageiro e de duplo propósito, não há disponibilidade de dados oficiais sobre suas respectivas áreas de cultivo. É sabido que estas são importantes e contribuem para o suporte forrageiro da pecuária regional. Essas estatísticas estão diluídas no âmbito de plantas forrageiras (TABOSA, 2020).

No Brasil, segundo estimativas da CONAB (2017), na safra 2016/2017, o sorgo granífero ocupou uma área plantada de 641,8 mil hectares, com produtividade de 2.914 kg ha⁻¹ e produção de 1,87 milhão de toneladas de grãos. De acordo com o mesmo levantamento, Goiás foi o maior produtor nacional, seguido por Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso e Tocantins. Na região Nordeste, Pernambuco apresentou a terceira maior área plantada (5,1 mil ha), mas a produtividade mais baixa do país: 155 kg ha⁻¹ (Figura 7).

Figura 7 - Comparativo da produção de grão de sorgo dos principais estados produtores de sorgo granífero no Brasil nas safras 2015/16 e 2016/17.



Fonte: Elaboração própria a partir de dados da CONAB (2017).

Com relação ao sorgo sacarino, na safra 2011/12 foram plantados no Brasil cerca de 20 mil hectares, com rendimentos variáveis de 40 a 65 toneladas de biomassa e 2 a 3 mil litros de etanol ha⁻¹. (DURÃES et al., 2012).

2.3.2 Tipos agronômicos de sorgo e possibilidades de uso

O sorgo é uma cultura com potencial de produzir, simultaneamente, alimentos e bioenergia, contribuindo para aumentar a segurança alimentar e o acesso a fontes renováveis de energia (REDDY et al., 2005). Tabosa (2013) classificou o sorgo em granífero, sacarino, vassoura, forrageiro e sudanense.

O sorgo granífero evidencia-se pelo seu principal produto, o grão, que é utilizado na alimentação animal e é utilizado em muitas regiões do mundo na alimentação humana. Nestes casos, os grãos não podem apresentar tanino. Em países como a Etiópia e Somália, na África, constitui uma importante fonte energética para humanos, podendo chegar a até 100 kg anuais o consumo *per capita* (FAO, 1995). Em se tratando de alimentação animal, o sorgo granífero pode ser usado nas rações em substituição parcial ao milho graças a sua semelhança na composição bromatológica e por motivo do aumento da disponibilidade do grão no mercado nacional nos últimos anos (GARCIA et al., 2005). De acordo com AMIRA (1992), pode ser feita a substituição de até 60 % do milho em rações de aves poedeiras, 20 a 40 % em rações para suínos e 89 % em rações para ruminantes, sem prejuízos na nutrição.

O sorgo sacarino caracteriza-se pelo colmo doce e succulento, podendo ser utilizado como forrageiro, desde que apresente elevada produção de biomassa. Apresenta ciclo vegetativo/reprodutivo entre 120 a 130 dias e é utilizado principalmente para produção de açúcar e álcool.

O tipo vassoura apresenta, como característica principal, a panícula na forma de vassoura. Tem importância regionalizada, principalmente na Região Sul do Brasil e no interior de São Paulo onde é usado na fabricação de vassouras e como produto artesanal.

O sorgo denominado forrageiro é uma planta produtora de massa e grãos que pode ser comparada ao milho em relação ao seu valor agronômico e nutritivo. Sua aplicabilidade na alimentação de ruminantes na forma de silagem tem se tornado cada vez mais comum, para amenizar o problema de escassez de pastagem, nos períodos de estiagem.

Por fim, o sorgo sudanense, também denominado de sorgo sudão, tem natureza herbácea, pertence a outra espécie botânica (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf), e é caracterizado por apresentar porte médio, baixo teor de HCN (ácido cianídrico) ciclo precoce, e aptidão para feno e pastejo.

Independente da finalidade da produção, altas produtividades demandam grandes aportes de nutrientes aos sistemas de cultivo, sendo o nitrogênio o mais crítico para o crescimento. Cantarella et al. (1996), estudando a extração de macronutrientes pela cultura do

sorgo, concluíram que, para a produção de uma tonelada de grãos, são exportados 17 kg de N e para a planta inteira, 30 kg de N. Pitta et al. (2001), estudando a extração média de nutrientes pela cultura do sorgo em diferentes níveis de produtividade, verificaram que as extrações de N aumentam linearmente com o acréscimo na produtividade e que, entre os nutrientes, a maior exigência do sorgo se refere ao N.

2.3.3 Ecofisiologia do sorgo

Por ser uma planta com sistema fotossintético C₄, típica de clima tropical, de características xerófilas, possui alta eficiência de uso de água e radiação solar (LIRA et al., 1986), sendo considerada uma das culturas mais eficientes na conversão de CO₂ atmosférico (CHIARAMONTI et al., 2002). A melhor faixa de temperatura para seu desenvolvimento oscila entre 16 e 38°C (RIBAS, 2009). A grande maioria dos materiais genéticos comerciais de sorgo requerem temperaturas superiores a 21°C para um bom crescimento e desenvolvimento (LANDAU & SANS, 2008).

É cultivado principalmente em locais de precipitação anual entre 375 e 625 mm (RIBAS, 2009). A planta de sorgo tolera déficit hídrico e excesso de umidade no solo, mais do que a maioria dos outros cereais (RODRIGUES, 2015). De acordo com Tabosa et al. (1987), são necessários, em média, 250 a 400 g de água para produzir 1 g de biomassa seca. Devido às suas características xerófilas e ao eficiente mecanismo morfológico, a planta de sorgo tem a habilidade de se manter dormente durante o período de seca, retomando seu crescimento imediatamente após o restabelecimento das condições favoráveis (LANDAU; SANS, 2009).

De acordo com Magalhães & Oliveira, (1991), o sorgo apresenta sistema radicular profundo e ramificado, eficiente na extração de água do solo. A profundidade de enraizamento pode chegar a 1,3 m, com 80% das raízes distribuídas nos primeiros 30 cm de profundidade. (BORÉM et al, 2014).

A resistência a seca é uma característica complexa pois envolve simultaneamente aspectos de morfologia, fisiologia e bioquímica. A literatura cita três mecanismos relacionados a seca: resistência, tolerância e escape. O sorgo parece apresentar duas características: escape e tolerância. O escape através de um sistema radicular profundo e ramificado, eficiente na extração de água do solo. Já a tolerância está relacionada ao nível bioquímico. A planta diminui o metabolismo, murcha (hiberna) e tem um poder extraordinário de recuperação quando o estresse é interrompido (MAGALHÃES et al. 2003). Ainda com relação a característica de tolerância do sorgo, a presença de sílica na endoderme, a lignificação do periciclo e o volume

de pelos absorventes permitem ao sorgo a tolerância ao déficit hídrico (MAGALHÃES et al. 2010; DINIZ, 2010). Tabosa et al., (2008) salientam que a cultura do sorgo é recomendada para o semiárido por se comportar como estratégica e alternativa, em face de suas características xerofílicas, o que provavelmente confere ao sorgo características de resistência ao estresse hídrico.

2.4 Nitrogênio e Molibdênio

O nitrogênio é o elemento mais abundante na constituição gasosa da atmosfera, compondo cerca de 78% do seu volume. Paradoxalmente, é o nutriente que mais comumente limita o crescimento vegetal (VITOUSEK & FARRINGTON, 1997). A maior parte do N da natureza está sob a forma de gás, constituído por dois átomos de nitrogênio numa forma combinada muito estável (N_2), impossibilitando sua absorção e assimilação por organismos eucariontes (plantas e animais).

É o quarto elemento mais abundante nas plantas, sendo superado apenas pelo carbono, oxigênio e hidrogênio, representando cerca de 2 a 5% da biomassa seca vegetal. É considerado elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, DNA, RNA, inúmeras enzimas e outras proteínas (MIFLIN & LEA, 1976; HARPER, 1994). As plantas o requerem em quantidade superior a qualquer outro nutriente mineral (EPSTEIM e BLOOM, 2006), e com exceção da água, o nitrogênio é geralmente considerado o fator mais limitante para o crescimento de plantas no seu ambiente natural (FRANCO & DÖBEREINER, 1994).

O balanço de N afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e translocação de fotoassimilados e a taxa de crescimento entre folhas e raízes, sendo o crescimento foliar primeiramente afetado (RYLE et al., 1979; TAIZ & ZIEGER, 2004). As principais fontes de N reativo na agricultura são fertilizantes sintéticos, FBN e adubo orgânico (estrume animal). Em termos quantitativos, fertilizantes sintéticos produzidos por meio do processo de Haber-Bosch são a forma mais consumida de N (SUTTON; VAN GRINSVEN, 2011).

O fornecimento de N aplicado via fertilizante não é totalmente aproveitado pelas plantas, em razão de ser um elemento que sofre diversos tipos de transformações, com perdas irreversíveis e reversíveis. A ureia, principal fonte de adubação nitrogenada utilizada na agricultura, quando aplicada na superfície do solo, sofre hidrólise enzimática, formando o gás amônia (NH_3), que pode ser perdido para a atmosfera por volatilização (DA ROS; AITA; GIACOMINI, 2005). Por outro lado, como a maioria dos constituintes da matriz dos solos

apresenta predominância de cargas negativas, o N aplicado ou que se transforma em NO_3^- , pode ser lixiviado para além da zona de absorção das raízes, considerando a sua baixa energia de ligação no solo (CRUSIOL et al., 2011). Ainda, o N pode ser imobilizado, por causa de sua incorporação na estrutura de outros organismos, sobretudo microrganismos (CANFIELD; GLAZER; FALKOWSKI, 2010).

Para Sampaio et al. (2009) a fertilização ainda era uma prática pouco comum, na região semiárida, e mesmo quando realizada, em determinadas condições, a adubação com N não promove efeito residual do fertilizante. Isto pôde ser confirmado por Sampaio et al. (2004) que avaliaram por três anos o efeito residual da aplicação de N e P em um Neossolo Flúvico, em Coxixola, PB. Quanto ao N, não houve efeito residual da aplicação de nitrato de amônio marcado ($^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$) e, neste caso, não houve retorno econômico do investimento no fertilizante. Ainda assim, aplicações de N devem ser consideradas, preferencialmente foliares, visto que há resposta na maioria das situações (SAMPAIO et al., 2004).

Desta forma, diante da complexidade do manejo da adubação nitrogenada e de seu impacto econômico e ambiental, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) representa uma estratégia viável economicamente, além de trazer benefícios ambientais associados à redução no uso de fertilizantes (HUNGRIA, 2011).

Com relação ao molibdênio (Mo), é encontrado em toda a crosta terrestre, porém, sempre em pequenas concentrações. As formações sedimentares são os ambientes mais ricos em Mo, especialmente os depósitos marinhos, onde as concentrações podem exceder a 0,04% (FERREIRA et al., 2001).

O molibdênio ocorre no solo como ânion de molibdato (MoO_4^{2-}), que é adsorvido por sesquióxidos e argilas. A disponibilidade do MoO_4^{2-} é maior em solos neutros que em solos ácidos, devido a sua adsorção ser máxima em pH 4 (MENGEL; KIRKBY, 1987)

É um micronutriente considerado essencial para as plantas (EPSTEIN E BLOOM, 2006). É o componente de duas enzimas essenciais do metabolismo do nitrogênio:

a) a redutase do nitrato, que ocorre em duas fases, sendo que a primeira ocorre no citossol e envolve a ação da enzima nitrato redutase (NR), produzindo nitrito, o qual adentra aos plastídeos nas raízes ou cloroplastos em folhas e onde ocorre a segunda fase, sendo reduzido à amônia por ação da enzima nitrito redutase (NiR), a qual é fixada via glutamato sintase/glutamina sintase (GS/GOGAT) nos aminoácidos, glutamina e glutamato (Figura, 8), que por sua vez servem de substrato para reações de transaminação, para a produção de aminoácidos necessários à síntese de proteínas (DONATO et al., 2004).

Figura 8 - Representação esquemática da absorção e assimilação do nitrato pelas plantas (assimilação nas folhas).

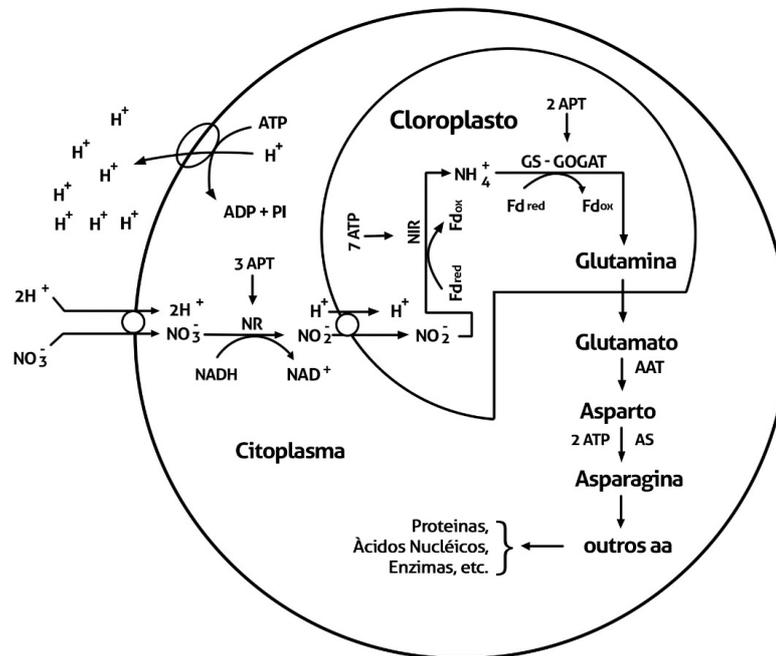


Foto: A. Silva (2016).

b) Nitrogenase - algumas bactérias apresentam a enzima nitrogenase, responsável, no processo de FBN, por quebrar a tríplice ligação do N_2 (atmosférico), transformando-o em duas moléculas de NH_3 , forma disponível às plantas e outros organismos. Este processo caracteriza a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), realizada por microrganismos diazotróficos ou fixadores de nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

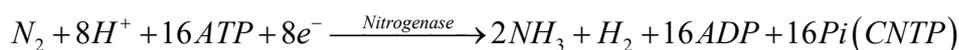
O molibdênio, por sua vez, faz parte do complexo da enzima nitrogenase, estando presente no centro ativo desta enzima. Sua falta ou mesmo a presença em quantidades insuficientes compromete o processo, impedindo ou reduzindo a capacidade de transformação do nitrogênio da atmosfera à forma amoniacal.

2.5 Fixação biológica do nitrogênio (FBN)

A FBN é a terceira fonte de N mais utilizada na agricultura, com valores estimados em torno de 40 a 60 milhões de toneladas por ano no mundo (SUTTON; VAN GRINSVEN, 2011). É um processo natural de conversão do N_2 atmosférico em amônia (NH_3), sendo considerado o segundo processo biológico mais importante do planeta, depois da fotossíntese, juntamente com a decomposição da matéria orgânica. É mediada por microrganismos edáficos que podem ou

não formar associações com vegetais. Pela capacidade que possuem de fixar N atmosférico, são denominados diazotróficos, graças à presença do complexo enzimático denominado nitrogenase.

A FBN é um processo que transfere oito elétrons e hidrolisa 16 ATP por molécula de N₂ fixado, caracterizando-se como um dos processos metabólicos com maior gasto energético para a célula (REIS et al., 2006). A estequiometria da reação é:



A amônia produzida é incorporada a íons H⁺, abundantes no substrato aquoso do citoplasma dos bacteroides, ocorrendo à transformação em íons NH₄⁺, que são distribuídos para a planta e incorporados na forma de nitrogênio orgânico (HUNGRIA et al., 1997).

Os micro-organismos diazotróficos podem apresentar diversos estilos de vida que vão desde a vida livre até associações simbióticas muito específicas. De acordo com o tipo de relação que os micro-organismos diazotróficos estabelecem com as plantas, eles podem ser classificados em simbióticos, que desenvolvem uma associação mutualística com seus hospedeiros, ou associativos, que habitam o interior ou a superfície dos tecidos (MOREIRA E SIQUEIRA, 2006).

2.6 FBN em gramíneas

A pesquisa sobre diazotróficos associativos no Brasil iniciou-se na década de 50 do século passado por Johanna Döbereiner e colaboradores. Seu primeiro trabalho com bactérias diazotróficas foi em 1953, no qual relatou pela primeira vez a ocorrência de bactérias do gênero *Azotobacter* em solos ácidos. Após cinco anos, Döbereiner; Ruschel, (1958) isolaram e descreveram a bactéria *Beijerinckia fluminensis* da rizosfera da cana de açúcar em solos tropicais, demonstrando que a planta poderia se beneficiar com aportes de N por meio de processo associativo. Porém, as pesquisas só foram intensificadas quando Döbereiner; Day, (1976) descobriram a capacidade de FBN no gênero *Spirillum*, posteriormente renomeado *Azospirillum* (TARRAND et al., 1978), com o aumento do interesse por alternativas biológicas aos fertilizantes nitrogenados com a chamada “crise do petróleo”, na década de 70 (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

A partir de então alguns aspectos da interação planta-bactéria começaram a ser elucidados. Essa interação íntima entre macro e micro simbioses modificou o conceito conhecido como associativo e Döbereiner (1992) introduziu o conceito endófitico no campo da FBN. Deste ponto em diante, grandes avanços foram alcançados na compreensão da fisiologia, ecologia e genética, bem como na interação da bactéria com a planta. De acordo com a proposição de Baldani et al. (1997), os diazotróficos associativos podem ser divididos em dois grupos: endofíticos facultativos e obrigatórios.

Os endofíticos facultativos apresentam um estágio de sua vida fora da planta hospedeira, sendo caracterizados como bifásicos, alternando entre a planta e o meio ambiente, colonizando tanto a rizosfera como o interior das raízes, colmos e folhas. Já os obrigatórios são aqueles estritamente dependentes da planta hospedeira para o seu crescimento e sobrevivência, sendo que a transmissão para outra planta ocorre verticalmente, ou por algum vetor (HARDOIM et al., 2008).

Depois disso, diversas espécies de diazotróficos foram descobertas, tanto de vida livre (*Azotobacter chroococcum*, *Beijerinckia fluminensis*, *Azotobacter paspali*, *Dexia* spp., *Paenebacillus azotofixans*) como associativos (*Azospirillum* spp. e *Burkholderia* spp.) e endofíticos (*Herbaspirillum* spp. e *Burkholderia* spp.).

Os modos pelos quais essas bactérias beneficiam as gramíneas estão relacionados a fixação biológica de nitrogênio (JAMES, 2000) e a benefícios devidos à produção de ácido indol-3-acético (AIA) e outras substâncias promotoras de crescimento que, comprovadamente, provocam alterações morfológicas na raiz (como o aumento de raízes laterais e pelos radiculares), aumentando a absorção de nutrientes (ALVES et al., 2015; VIDEIRA et al., 2012). Além disso, podem contribuir com a diminuição, ou prevenção dos efeitos negativos de fitopatógenos devido à síntese de antibióticos, redução do potencial de membrana das raízes, síntese de algumas enzimas tais como, ACC deaminase, que regula os níveis de hormônios na planta, além, de solubilização de fosfato inorgânico e mineralização de fosfato orgânico (RODRÍGUEZ & FRAGA, 1999).

Cálculos da contribuição de N fixado para gramíneas estão em torno de 25 a 50 Kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, o que equivale ao suprimento médio de 17% de suas demandas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Segundo dados do IBGE (2015), dentre as cinco culturas com maior produção em 2015, no Brasil, destacam-se três gramíneas: cana de açúcar (2º lugar), milho (3º lugar) e arroz (5º lugar). Acrescente-se ainda a extensa área de pastagens (naturais e plantadas), que, segundo o censo agropecuário do IBGE sobre a utilização de terras no Brasil, representava, em 2006, cerca

de 150 milhões de hectares. Considerando esses dados e que as espécies produtoras de grãos, como o milho e arroz, entre outras, são a principal fonte de carboidrato da dieta humana e o alto potencial fotossintético das gramíneas C4 nos trópicos, essa taxa de FBN, mesmo se baixa, representa uma grande economia nos custos de produção, o que justifica estudos visando seu manejo (MOREIRA E SIQUEIRA 2006). Adicionem-se a isso, outros tipos de benefícios, além da FBN, que têm sido apresentados por tais bactérias, como a promoção do crescimento em plantas (rizobactéria PCP).

Para promover a fixação do N, as bactérias colonizam diferentes nichos na planta. Podem entrar nas raízes por meio da região entre a epiderme e a coifa ou por espaços que aparecem durante a emergência de raízes secundárias (JAMES et al., 2002). De acordo com Hallmann (2001), a população bacteriana no interior das raízes é de aproximadamente 10^5 a 10^7 UFC g^{-1} . Entretanto, a sobrevivência na endosfera requer características diferenciadas, como a capacidade de metabolizar os produtos provenientes da fotossíntese, secretar enzimas diversas, mecanismos de desintoxicação e a presença de estruturas locomotoras (flagelos) (RASCHE et al., 2009; REINHOLD-HUREK; HUREK, 2011). Nas raízes, encontram-se os vasos do sistema condutor das plantas, as bactérias utilizam passivamente a via de transporte do xilema, responsável pelo transporte de água e nutrientes para parte aérea (COMPANT et al., 2008). A capacidade de mobilidade bacteriana, associada ao movimento de água durante o processo de transpiração e ao comportamento do xilema como livre condutor, torna possível que as bactérias cheguem até os órgãos vegetativos e reprodutivos da parte aérea das plantas (JAMES et al., 2002, COMPANT et al., 2008). A colonização de caules e folhas pelas bactérias endofíticas leva a populações com densidade de 10^3 a 10^4 UFC g^{-1} (HALLMANN, 2001). Já a colonização dos órgãos reprodutivos é ainda mais restrita, com densidade bacteriana na ordem de 10^2 a 10^3 UFC g^{-1} , demonstrando que somente micro-organismos altamente especializados têm competência para colonizar estes nichos (HALLMANN, 2001).

2.7 FBN em sorgo

O sorgo é uma gramínea que apresenta ótimas perspectivas quanto à capacidade de respostas positivas à interação com bactérias diazotróficas, e/ou promotoras de crescimento (DÖBEREINER, 1997). Várias espécies de bactérias diazotróficas são capazes de estabelecer relações com a planta de sorgo. A Tabela 1 apresenta várias espécies de diazotróficos capazes de estabelecer relações com a planta de sorgo.

Tabela 1 - Ocorrências de associações de diazotróficos com plantas de sorgo.

Espécie de diazotrófico	Referência
<i>A. amazonense</i>	Baldani et al. (1984)
<i>A. lipoferum</i>	Pereira et al. (1988)
<i>Azospirillum brasilense</i>	Tien et al. (1979); Döbereiner & Pedrosa (1987); Okon et al. (1988); Pacovsky (1990)
<i>Azospirillum, Herbaspirillum e Burkholderia</i>	Bergamaschi et al. (2007)
<i>Burkholderia cepacea</i>	Chiarini, et al. (1998)
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	Luna et al. (2010)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	Baldani et al. (1986); Baldani et al. (1992)
<i>Herbaspirillum seropedicae / H. rubrisubalbicans</i>	James et al. (1997)

Fonte: O autor (2019).

O processo de colonização do sorgo por bactérias endofíticas ainda é pouco conhecido, mas os principais sítios de infecção aparentemente são os sítios de emergência das raízes laterais e pelos radicais (LUNA et al., 2010). Este aspecto assume importância porque a principal via de multiplicação da cultura são as sementes, diferentemente da cana-de-açúcar, por exemplo, cuja propagação vegetativa assegura uma população de micro-organismos já estabelecida. É possível que os micro-organismos endofíticos que irão colonizar os tecidos do sorgo sejam nativos dos solos onde a gramínea é cultivada.

Quando comparado com leguminosas, a aplicação prática da FBN em gramíneas ainda é incipiente. No Brasil, pesquisas recentes desenvolvidas na Embrapa Agrobiologia, propiciaram o desenvolvimento de um inoculante à base da mistura de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Burkholderia tropica* e *Azospirillum amazonense*, que mostrou ser capaz de substituir parte do nitrogênio mineral aplicado na cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 2006). Estudos desenvolvidos na Embrapa Soja e Universidade Federal do Paraná também levaram à produção de um inoculante comercial à base de estirpes de *Azospirillum brasilense* para as culturas do milho e arroz.

Uma parceria da BASF e da Embrapa Agrobiologia, com o apoio da Universidade de Campinas (Unicamp), Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) e Universidade Estadual de Maringá (UEM) lançou, em 2018, o “Muneo BioKit” que une produtos químicos e biológico em tecnologia para o cultivo da cana-de-açúcar. A parte química é composta pelo Muneo, produto com ação inseticida e fungicida. O produto biológico é o Aprinza, inoculante que atua como promotor de crescimento de raízes, contribuindo para uma maior absorção de nutrientes.

Com relação ao sorgo, os relatos são escassos e apenas recentemente foram publicados trabalhos demonstrando FBN nesta cultura (CARVALHO et al. 2017; FERREIRA NETO et al. 2017; SANTOS et al. 2017; BARROS et al. 2020).

2.8 Transferência de N para gramíneas em associação com leguminosas

A principal vantagem do consórcio entre leguminosas e gramíneas advém do fato de que espécies de leguminosas, em simbiose com bactérias conhecidas genericamente como rizóbios, podem fixar N atmosférico e, conseqüentemente, gerar um ambiente mais rico neste elemento para a gramínea acompanhante. A proporção de N na leguminosa, derivado da simbiose, varia de acordo com a espécie, estágio de crescimento e quantidade de N no solo, existindo inibição do funcionamento e formação de nódulos em condições de alta disponibilidade de N no solo (GARCIA et al., 2002).

Os mecanismos de transferência de N em consórcios de gramínea/leguminosa não são totalmente compreendidos. Parte do nitrogênio fixado pela leguminosa pode ser transferido direta ou indiretamente para a gramínea associada (CANTARUTTI; BODDEY, 1997). Há evidências de que a transferência direta ocorra por meio de produtos nitrogenados excretados pelas raízes, por fluxo de nitrogênio através de fungos que interconectam as raízes das duas espécies, e por reabsorção do nitrogênio volatilizado ou lixiviado da folhagem da leguminosa. Indiretamente, o mecanismo de transferência processa-se por mecanismos de ciclagem desse nutriente que ocorre, subterraneamente, através da senescência de raízes e nódulos e, superficialmente, através de resíduos vegetais em decomposição (LEDGARD, 1991; CANTARUTTI; BODDEY, 1997).

Para Barcelos e Vilela (1994), a capacidade de fornecimento do nitrogênio promovido pelas leguminosas varia de 40 a 290 kg ha⁻¹ ano⁻¹, sendo que na sua grande maioria situa-se entre 70 a 140 kg ha⁻¹ ano⁻¹. As leguminosas podem prover N ao sistema através da fixação biológica, ou competir por N com as gramíneas quando a inoculação e a nodulação não são adequadas (GARCIA et al., 2002).

A porcentagem de N fixado pela leguminosa que é transferido para a gramínea associada pode variar de 0 a 75%. Esta variação é devido a fatores como: capacidade de fixação de N pela leguminosa (BARCELOS, VILELA, 1994); espécie de leguminosa e de gramínea; porcentagem de leguminosa na mistura; e disponibilidade de N no solo (NESSHEIM, BOLLER, 1991; WHIETEHEAD, 1995).

2.9 Técnicas isotópicas no estudo do nitrogênio

Isótopos são espécies atômicas de um mesmo elemento químico que possuem massas diferentes pelo fato de o número de nêutrons em seus núcleos ser distinto, ou seja, possuem o mesmo número de prótons (conhecido como número atômico, Z), mas diferentes números de nêutrons (N) no núcleo atômico. Uma vez que a massa atômica (A) é dada pela soma do número de prótons mais o número de nêutrons, isótopos de um mesmo elemento terão diferentes valores de A .

Alguns isótopos são radioativos, têm um núcleo instável que se desintegra emitindo radiação espontaneamente, enquanto outros, chamados de isótopos estáveis, não são objeto de decaimento e não são radioativos. A principal técnica de análise para isótopos estáveis é a espectrometria de massas que se baseia no princípio de separação de moléculas gasosas ionizadas de acordo com suas massas, quando essas atravessam num campo magnético.

A composição isotópica (R) de um determinado elemento é expressa pela relação entre o isótopo raro e o isótopo mais abundante, ou estabelecido pelo isótopo mais pesado sobre o isótopo mais leve (MARTINELLI et al., 2009).

O uso de isótopos de N é baseado no fato que qualquer material existente na natureza que possua nitrogênio em sua constituição apresentará uma proporção de 0,366% de átomos de ^{15}N em relação ao total de N , que em sua maioria é composto do isótopo ^{14}N (ALVES et al., 2005). As técnicas isotópicas de ^{15}N são muito úteis para quantificar a contribuição da FBN associada às não-leguminosas, e englobam a contribuição da FBN no ciclo completo das culturas. Baseiam-se no princípio de que, se as concentrações de ^{15}N da planta, do N disponível do solo e N_2 atmosférico são conhecidos é possível calcular a percentagem de N derivado da atmosfera (%N_{dda}).

Para avaliar a contribuição da FBN, bem como as diferenças na capacidade de fixar e transferir N entre espécies de leguminosas perenes e gramíneas, várias técnicas têm sido utilizadas. Especificamente, a técnica baseada na abundância natural de ^{15}N é mais apropriada para avaliações em ecossistemas naturais e em sistemas agrícolas (BALDANI et al., 2009). As vantagens desta técnica são as quantificações rápidas e seguras, a não perturbação do ambiente (nada precisa ser adicionado ou destruído) e a integração do efeito do processo de FBN ao longo do tempo (FREITAS et al., 2010b). Esta metodologia baseia-se no fato que o N no solo é enriquecido com isótopo ^{15}N , em relação à proporção de ^{15}N do ar, devido à discriminação isotópica durante as transformações do N no solo (SHEARER; KOHL, 1992). O N presente nas plantas, absorvido do solo, tende a ter enriquecimento em ^{15}N semelhante ao do solo.

Porém, se o N das plantas tiver origem na FBN, o enriquecimento em ^{15}N será menor, pois este vem da atmosfera (BODDEY et al., 2000). A maior desvantagem desta técnica é a diferença pequena de abundância entre plantas fixadoras e não-fixadoras de N_2 . Para tratar com esses pequenos valores, convencionou-se a utilização das unidades chamadas $\delta^{15}\text{N}$, expressas em partes por mil (‰) e determinadas pela Equação (1), tal que a abundância natural de ^{15}N do ar, considerada como padrão, seja igual a 0,00 ‰:

$$\delta^{15}\text{N}(\text{‰}) = \left(\frac{\% \text{átomo } ^{15}\text{N}_{\text{amostra}} - 0,3663}{0,3663} \right) \times 1000 \quad \text{eq (1)}$$

Diversos trabalhos têm empregado a técnica da abundância natural de ^{15}N para calcular a contribuição da fixação de N_2 em plantas não-leguminosas: arroz (WATANABE et al., 1987), cana-de-açúcar (URQUIAGA et al., 2012), capim-elefante (MORAIS, et al., 2012) e sorgo (CARVALHO et al. 2017; FERREIRA NETO et al. 2017; SANTOS et al. 2017; BARROS et al. 2020). Esta técnica é baseada na diferença da abundância natural de ^{15}N entre as plantas fixadoras e as plantas que obtém N somente do solo, consideradas como plantas de referência.

Para calcular a proporção do N da planta que é derivado da atmosfera (ou seja, fixado via FBN) é feita uma interpolação entre as abundâncias de ^{15}N do N fixado e do N de outras fontes disponíveis para a planta, por meio da equação de Shearer e Kohl (1986) (Equação. 2).

$$\%N_{\text{dda}} = \left(\frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{referência}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{fixadora}}}{\delta^{15}\text{N}_{\text{referência}} - B} \right) \times 100 \quad \text{eq (2)}$$

Em que: %N_{dda} é o percentual de N da planta fixadora que é derivado do ar; $\delta^{15}\text{N}$ (referência) é a abundância de ^{15}N da planta controle não fixadora; $\delta^{15}\text{N}$ (fixadora) é a abundância de ^{15}N da planta fixadora; e B (também chamado valor B) é a abundância de ^{15}N do N atmosférico fixado na planta fixadora na ausência de qualquer outra fonte de N.

O valor B é incluído na fórmula de %N_{dda} para corrigir o fracionamento isotópico durante o processo de fixação do N. Para estimativas da FBN em leguminosas, esse valor é determinado cultivando plantas inoculadas com estirpes efetivas de rizóbios em substratos livres de N. Devido às complicações metodológicas para determinação do valor B, diversas estimativas são feitas utilizando valores disponíveis na literatura (HÖGBERG, 1997; BODDEY

et al., 2000; UNKOVICH et al., 2008). No caso das gramíneas, ainda não foi possível fazer crescer uma planta cujo fornecimento de N dependa exclusivamente da FBN, por isso, a magnitude do valor B não é conhecida e atualmente, em vários trabalhos sobre a FBN em cana-de-açúcar, arroz e capim-elefante, o valor de B é considerado igual a zero (BODDEY et al., 2000).

De acordo com Högberg (1997), o sucesso da quantificação da FBN utilizando a técnica da abundância natural do ^{15}N depende do padrão isotópico do N no sistema. Estimativas precisas requerem uma grande diferença nos sinais de $\delta^{15}\text{N}$ das espécies referência e das espécies fixadoras. Diferenças menores que 2‰ entre espécies devem ser discutidas com cautela, mesmo que sejam estatisticamente significativas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

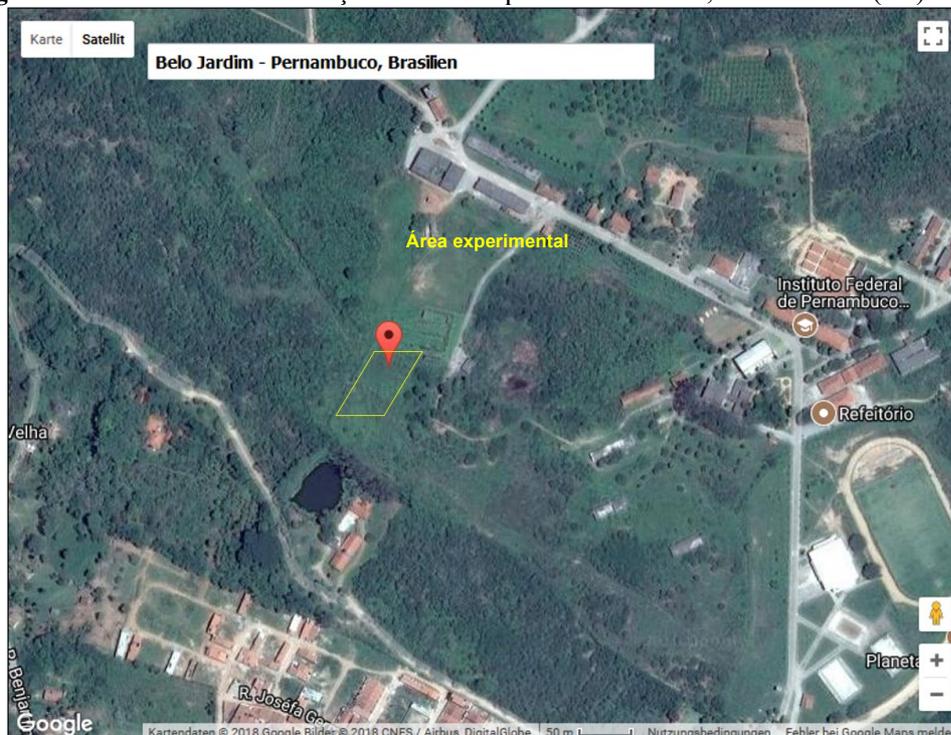
3.1 Localização e caracterização da área experimental

O estudo foi conduzido no Campus do IFPE (Instituto Federal de Pernambuco), no município de Belo Jardim, Agreste de Pernambuco. O local do estudo está na latitude S 08° 16' 00", longitude W 36° 25' 00" e altitude em torno de 607 m (Figuras 9 e 10).

O clima da região é classificado como Aw, segundo Köppen-Geiger. Apresenta temperatura média anual de 22°C, o mês mais quente do ano é janeiro com temperatura média de 23.9 °C e julho tem a temperatura média mais baixa, 19.3 °C. A pluviosidade média anual é de 660 mm; outubro é o mês mais seco, com precipitações medias de 12 mm e março o de maior precipitação, com média de 123 mm (CLIMATE, 2018).

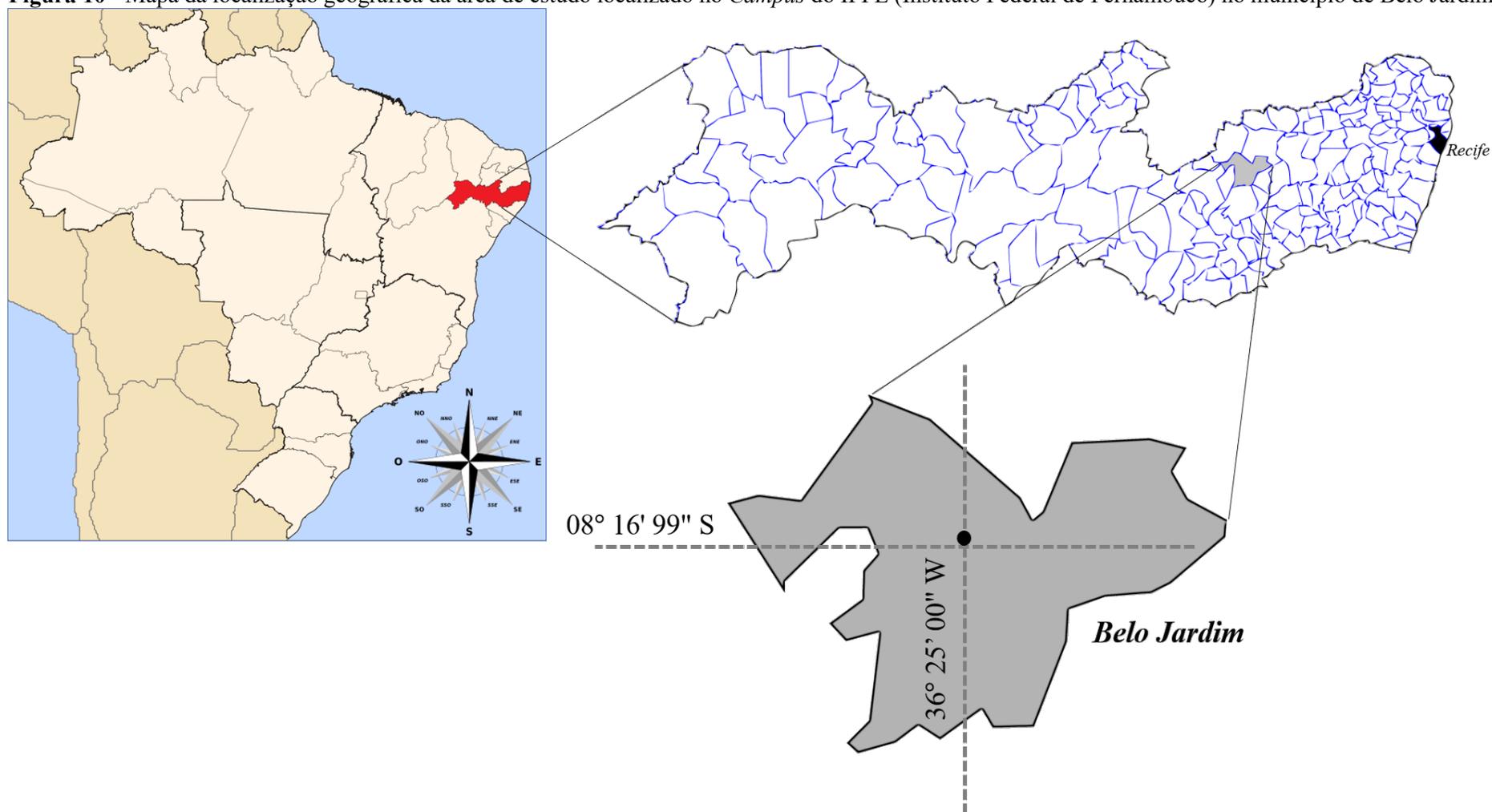
O solo da área é classificado como Podzólico Vermelho-Amarelo (SILVA, 2001). Antes do experimento, a área permaneceu em pousio, e sua cobertura vegetal era de plantas espontâneas.

Figura 9 - Detalhes da localização da área experimental. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.



Fonte: Google Maps.

Figura 10 - Mapa da localização geográfica da área de estudo localizado no *Campus* do IFPE (Instituto Federal de Pernambuco) no município de Belo Jardim.



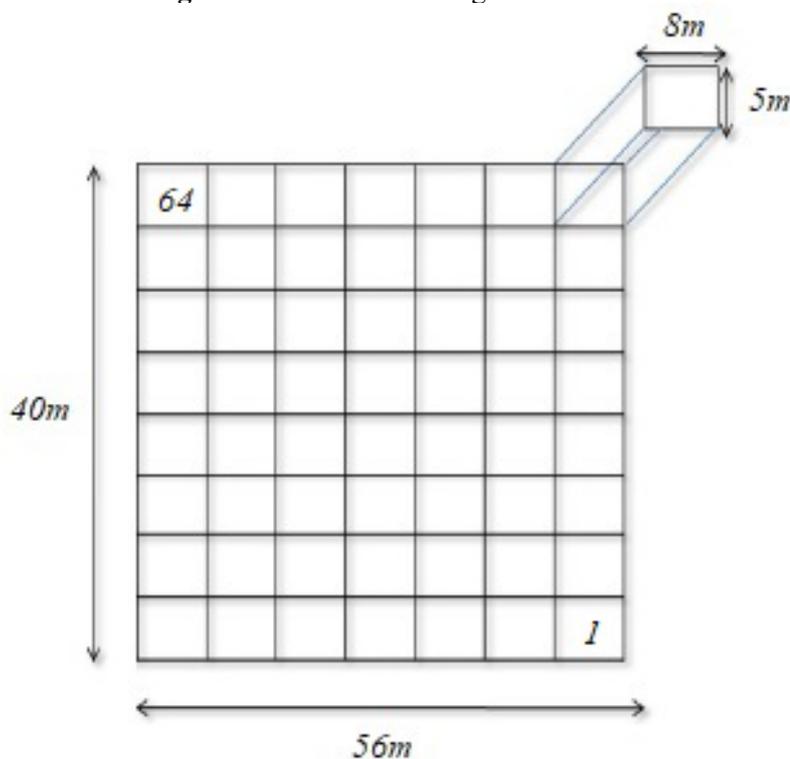
Fonte: O autor (2019).

3.2 Caracterização química e física do solo da área experimental

Antes da instalação do experimento, para distribuição homogênea dos blocos na área experimental foi definida uma malha amostral para caracterização da variabilidade espacial de pH. A área total disponível para execução do trabalho, de 40 m x 56 m (2240 m²), foi dividida em 64 células, cada uma com 40 m², (Figura 11). Solo foi coletado em todas as células, tendo-se utilizado trado holandês de forma manual. Cada amostra foi composta por três subamostras, coletadas dentro de cada célula, na profundidade de 0 a 20 cm. O pH no solo variou entre 5,4 e 6,7 (Figura, 12).

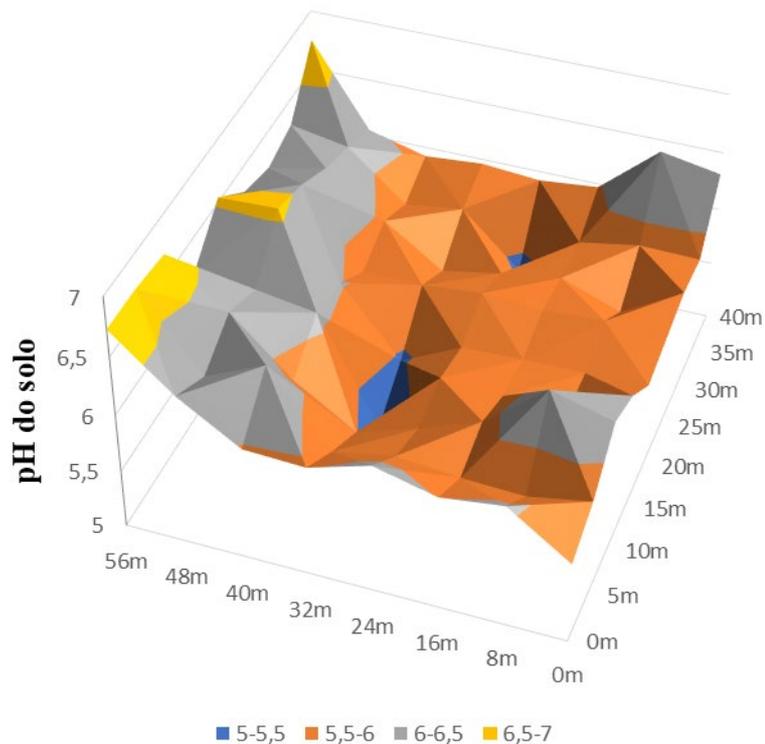
Com base na variação, foi estabelecida como área experimental a parte leste da área total, com uma área de 1040 m² (26 x 40 m). Nesta área, foram montados dois experimentos, um no primeiro e outro no segundo ano, ambos obedecendo a um delineamento experimental em blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial 5 x 2, correspondendo a cinco sistemas de cultivo x duas doses de molibdênio, com quatro repetições, totalizando 40 parcelas experimentais.

Figura 11 - Dimensões da grade amostral.



Fonte: O autor (2019).

Figura 12 - Arranjo amostral para mapeamento do pH do solo.



Fonte: O autor (2019).

Antes da instalação do experimento, uma amostra composta de 15 amostras simples foi coletada na camada de 0 a 20 cm de profundidade, de cada bloco, e analisada seguindo a metodologia recomendada pela Embrapa (2009). O solo foi caracterizado quimicamente (Tabela 2) pelo pH (H₂O), P, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺, Al³⁺ e H⁺. Os cátions Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ foram extraídos com KCl 1,0 mol L⁻¹, sendo o Ca²⁺ e o Mg²⁺ dosados por espectrofotometria de absorção atômica e o Al³⁺ por titulometria. P, K⁺ e Na⁺ foram extraídos por Mehlich-1, sendo o P dosado por colorimetria e o K⁺ e o Na⁺ por fotometria de emissão de chama. A acidez potencial (H⁺+Al) extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria. Com base nestes dados, foram calculadas a soma de bases (S), a capacidade de troca de cátions efetiva (t), a capacidade de troca de cátions potencial (T), a saturação por bases (V) e a saturação por alumínio (m). Fisicamente, foram determinadas as características físicas do solo (Tabela 3): densidades aparente e de partículas e proporções de areia, silte e argila, que foram usadas para calcular a classe textural.

Tabela 2 - Resultados da análise química de amostras de solo coletado entre 0 e 20 cm de profundidade na área experimental, antes da semeadura. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Identificação	pH (H ₂ O)	P mg dm ⁻³	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	Al ³⁺	H ⁺	SB	t	T	V		m
												----- Cmol ^e dm ⁻³ -----		
Bloco 1	6,10 ^{Af}	185 ^{Mb}	3,55	1,70	0,04	0,54	0,00	2,06	5,8	5,8	7,86	74 ^A	0,00 ^B	
Bloco 2	5,70 ^{Am}	80 ^{Mb}	2,20	1,65	0,06	0,28	0,05	2,67	4,2	4,25	6,87	61 ^A	1,00 ^B	
Bloco 3	6,30 ^{Af}	185 ^{Mb}	3,60	2,00	0,06	0,48	0,00	2,14	6,1	6,10	8,24	74 ^A	0,00 ^B	
Bloco 4	5,60 ^{Am}	56 ^{Mb}	2,15	1,60	0,05	0,23	0,05	2,50	4,0	4,05	6,55	61 ^A	1,00 ^B	

*pH em água - Relação 1:2,5 TFSA; SB - Soma de bases; t - Capacidade de troca de cátions efetiva; T - Capacidade de troca de cátions potencial (CTC a pH 7); V = saturação de bases; m = saturação por alumínio.

**Análises realizadas nos laboratórios do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), de acordo com método da Embrapa (2009) e interpretação de acordo com Alvarez et al. (1999). Af - Acidez fraca; Am - Acidez média; Mb - Muito bom; A - Alta; B - Baixa.

Tabela 3 - Resultados da análise física de amostras de material de solo coletado entre 0 e 20 cm de profundidade na área experimental utilizada, antes da semeadura. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Identificação	Densidade -- (g cm ⁻³) --		Composição Granulométrica ----- % -----				Classe Textural
	¹ Dap	² Dp	Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	
Bloco 1	1,55	2,59	50	25	14	11	Franco arenoso
Bloco 2	1,50	2,59	54	23	14	9	Franco arenoso
Bloco 3	1,53	2,59	49	24	18	9	Franco arenoso
Bloco 4	1,52	2,60	60	20	11	9	Areia franca

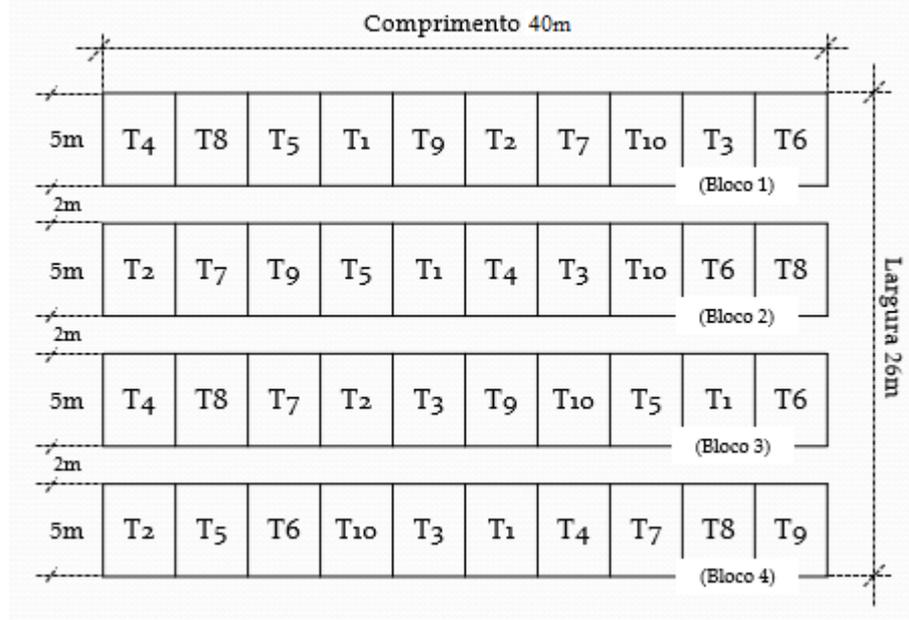
¹Dap - Densidade aparente; ²Dp - Densidade das partículas.

3.3 Experimento 1 (1º ciclo)

O experimento 1 constou de um fatorial de cinco sistemas de cultivo com dois níveis de aplicação de molibdênio. Os cinco sistemas de cultivo foram: sistema 1) cultivo solteiro de sorgo da variedade de sorgo IPA 467; sistemas 2, 3 e 4) consórcio desta variedade de sorgo com cada uma de três espécies de leguminosas (crotalária, *Crotalaria juncea* L.; feijão de porco, *Canavalia ensiformis* L. DC; e feijão macassa, *Vigna unguiculata* L. Walp. Cultivar IPA 207); e sistema 5), sorgo consorciado com girassol (*Helianthus annuus* L), que foi utilizado como espécie referência para estimativa da transferência de N das leguminosas para o sorgo. Os dois níveis de molibdênio foram 0 e 1,6 kg ha⁻¹ (VIEIRA, 2013), doravante denominados de doses 0 e 1, respectivamente. O molibdênio foi aplicado via foliar, no volume de calda de 600 l ha⁻¹. empregando-se um pulverizador manual, tendo como fonte o molibdato de sódio (39% de Mo). As doses foram aplicadas em duas vezes, a primeira 30 e a segunda 38 dias após a semeadura (DAS).

As combinações e distribuição dos diferentes tratamentos utilizados na área experimental são mostrados na Figura 13. T1 e T2 corresponderam ao cultivo solteiro do sorgo, sem e com aplicação de molibdênio; T3 e T4 ao sorgo consorciado com girassol, sem e com aplicação de molibdênio; T5 e T6 ao sorgo consorciado com feijão de porco, sem e com aplicação de molibdênio; T7 e T8, ao sorgo consorciado com crotalária sem aplicação de molibdênio; e T9 e T10 ao sorgo consorciado com feijão macassa, sem com aplicação de molibdênio.

Figura 13 - Representação esquemática da área experimental com distribuição dos tratamentos.



Fonte: O autor (2019).

Figura 14 - Visão panorâmica da área experimental.



Fonte: O autor (2019).

Figura 15 - Visão panorâmica das parcelas experimentais e distribuição dos tratamentos.



Fonte: O autor (2019).

Além das espécies que foram avaliadas nos tratamentos experimentais, foram semeadas, nas bordas de cada bloco, girassol (*Helianthus annuus* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.), que foram utilizados como plantas referência para estimativa da FBN.

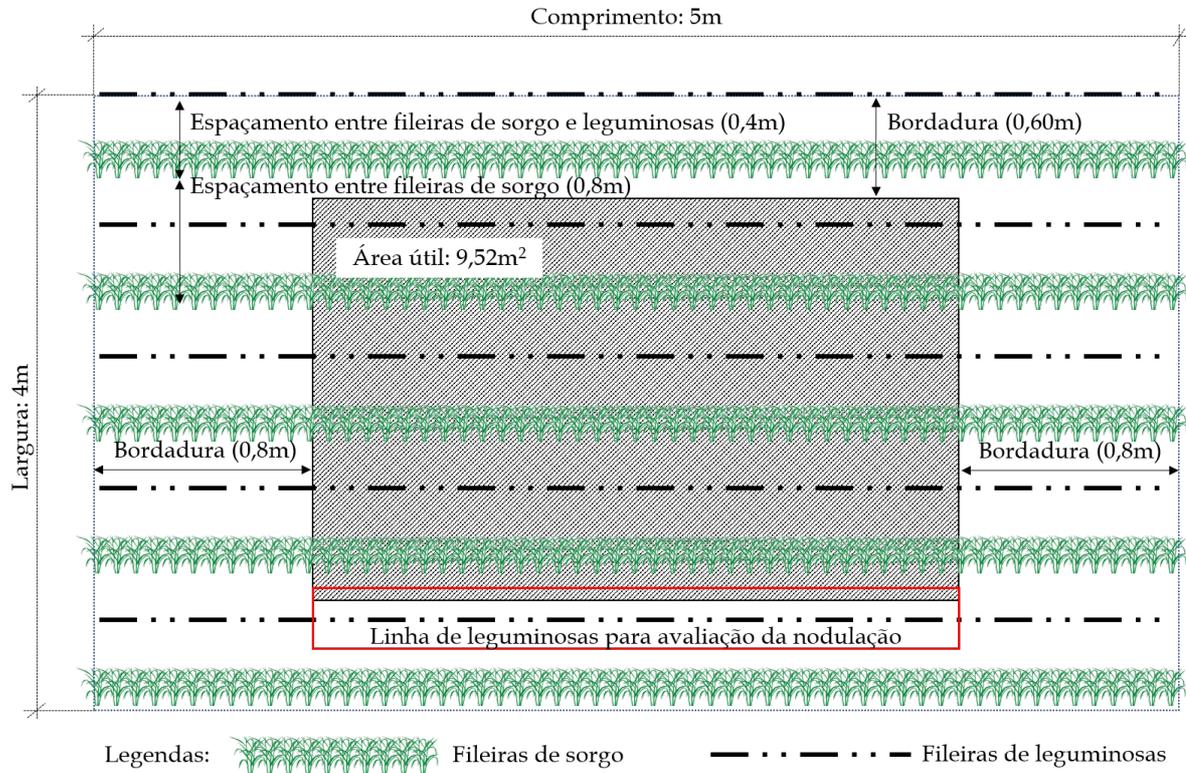
3.3.1 Parcelas experimentais

As parcelas experimentais tiveram área de 20 m² (4 x 5 m), com o sorgo plantado em cinco fileiras contínuas espaçadas em 0,8 m e com 5 m de comprimento. Nos tratamentos consorciados, as leguminosas e o girassol foram plantadas em uma linha entre cada fileira de sorgo. A área útil de 9,52 m², correspondeu às três linhas centrais das cinco plantadas com sorgo em cada parcela, com duas linhas de leguminosas ou planta de referência compreendidas entre elas, e desprezando-se 0,8 m em cada extremidade da parcela (Figura 16).

O plantio das parcelas foi feito em 22/05/2019, em sulcos com profundidade de 5 cm, com distribuição das sementes em toda a extensão do sulco, de acordo com a especificidade de cada espécie. Após a semeadura, foi colocado solo sobre as sementes, formando uma camada

de aproximadamente 2 cm. Quando necessário, foi feito um replantio 10 dias após a semeadura e um desbaste deixando-se 12 plantas por metro linear de sulco.

Figura 16 - Esquema de uma parcela experimental em cultivo consorciado.



Fonte: O autor (2019).

Figura 17 - Imagem panorâmica das parcelas experimentais em cultivos consorciados.



Fonte: O autor (2019).

O campo experimental foi irrigado, utilizando-se o tipo aspersão. As lâminas de irrigação aplicadas nas parcelas foram definidas visando manter o solo próximo a capacidade de campo, que foi monitorada por tensiômetros instalados a 30 cm de profundidade. Quando necessário, foram realizadas limpas manuais para impedir o estabelecimento de vegetação espontânea.

3.3.2 Avaliação biométrica das variedades de sorgo

Foram realizadas avaliações biométricas no sorgo aos 30, 60, 90 e 120 dias após a semeadura (DAS), avaliando-se a altura da planta (AP) e o diâmetro do colmo (DC), medido a 15 cm de altura, sempre em três plantas, sorteadas aleatoriamente, dentro da área útil de cada parcela e marcadas com fita para identificação (Figura, 18). A altura foi aferida com o auxílio de uma trena de metal, medindo-se sempre do colo até o ápice da planta. Para a aferição do DC foi usado um paquímetro digital de fibra de carbono.

Figura 18 - Plantas de sorgo marcadas para avaliações biométricas. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.



Fonte: O autor (2019).

Figura 19 - Avaliações biométricas de diâmetro de colmo e altura de plantas de sorgo. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.



Fonte: O autor (2019).

3.3.3 Avaliação da FBN e da produção de biomassa das leguminosas

A produção de biomassa aérea das leguminosas foi avaliada 90 DAS. Todas as plantas leguminosas da área útil de cada parcela foram cortadas e amostradas e foram coletadas amostras da parte aérea de girassol, algodão e mamona. Todas as amostras foram secas em estufa, moídas e enviadas ao laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear

na Agricultura (CENA) para determinação dos teores de C total (%), N total (%), ^{15}N e ^{13}C , por espectrometria de massa.

As abundâncias naturais do ^{15}N e do ^{13}C foram expressas em unidades de “delta” ($\delta^{15}\text{N}$), que representa o desvio, por mil (‰), em relação ao N_2 atmosférico e ao padrão PDB Belemnite, da razão entre as massas de ^{15}N e ^{14}N do nitrogênio e do ^{13}C e do ^{12}C do carbono contido na amostra:

$$\delta = \left(\frac{R_{\text{Amostra}}}{R_{\text{Padrão}}} - 1 \right) \times 1000 \quad \text{eq (3)}$$

Onde R_{amostra} e $R_{\text{padrão}}$ são as razões $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ da amostra e do padrão (N_2 atmosférico), respectivamente.

Para estimativa do percentual de nitrogênio derivado do ar (%N_{dda}) nas leguminosas foi utilizado o método da abundância natural do ^{15}N . Essas estimativas foram realizadas sempre que os sinais de $\delta^{15}\text{N}$ das leguminosas forem significativamente diferentes do sinal médio das espécies referência, conforme recomendado por Högberg (1997). Para o cálculo do %N_{dda} foi utilizada a equação proposta por Shearer e Kohl (1986):

$$\%N_{dda} = \left(\frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{referência}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{fixadora}}}{\delta^{15}\text{N}_{\text{referência}} - B} \right) \times 100 \quad \text{eq (4)}$$

Onde $\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})}$ é o valor médio dos $\delta^{15}\text{N}$ das plantas referência (girassol, algodão e mamona) de cada bloco; $\delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}$ é o valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ de cada leguminosa para cada parcela e B é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ para plantas fixadoras cultivadas na ausência de N (UNKOVICH et al., 2008).

A quantidade de N fixado na parte aérea das plantas foi estimada multiplicando o valor de %N_{dda} pelo conteúdo de N de cada planta fixadora, calculado pelo produto da concentração deste nutriente e da biomassa seca da parte aérea.

3.3.4 Estimativas da produção de biomassa da FBN para o sorgo

Ao fim do ciclo de cultivo do sorgo (120 DAS) foi estimada a produção total de biomassa verde da parte aérea (BVPA), cortando as plantas rente ao solo e pesando-se a biomassa de todas as plantas da área útil da parcela. Desta biomassa, foram coletadas

subamostras para determinação do teor de umidade e estimativa da produção de biomassa seca da parte aérea (BSPA). Amostras compostas de uma folha verde e sadia de cinco plantas de sorgo escolhidas aleatoriamente da área útil foram coletadas. Todo o material vegetal coletado durante a execução deste estudo foi acondicionado em sacos de papel e levado a estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 65°C por 72 horas para obtenção do peso da BSPA. Posteriormente, as amostras foram trituradas em moinho de facas e tamisadas em peneira com malha de 100 mesh. Na sequência, alíquotas desse material foram encaminhadas para determinação dos teores de C total (%), N total (%), ^{15}N e ^{13}C , da mesma forma descrita anteriormente para as leguminosas.

A estimativa do percentual de nitrogênio derivado do ar (%Ndda) no sorgo foi feita utilizando o método da abundância natural do ^{15}N . Essas estimativas foram realizadas para os tratamentos de sorgo solteiro, sempre que os sinais de $\delta^{15}\text{N}$ foram significativamente diferentes do sinal médio do sorgo em consórcio com o girassol. Para o cálculo do %Ndda foi utilizada a equação proposta por Shearer e Kohl (1986), adotando-se o valor de $B = 0 \text{ ‰}$ (MORAIS et al., 2012).

A quantidade de N fixado, na parte aérea das plantas, foi estimada multiplicando o valor de %Ndda pelo conteúdo de N de cada planta fixadora, através do produto da concentração de N e da biomassa seca da parte aérea.

3.3.5 Estimativa da transferência do N fixado nas leguminosas para o sorgo

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das folhas de sorgo coletadas nas duas épocas (ocasião da primeira coleta das plantas leguminosas e aos 120 dias após o plantio), foram usados para estimativa da transferência do N fixado nas leguminosas para a cultura, utilizando a Equação 5 (DIAS et al., 2007; PAULINO et al., 2009):

$$\%N_{\text{Transferido}} = \left(1 - \frac{\delta^{15}\text{N}_{(\text{Planta-teste})}}{\delta^{15}\text{N}_{(\text{Planta-testemunha})}} \right) \times 100 \quad \text{eq (5)}$$

Onde: $\delta^{15}\text{N}_{\text{Planta-teste}}$ é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ obtido das variedades de sorgo cultivados nas parcelas em consórcio com leguminosas e $\delta^{15}\text{N}_{\text{Planta-testemunha}}$ é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ obtido das variedades de sorgo cultivado em consórcio com girassol.

Na ocasião da coleta das plantas de sorgo foi realizado o corte e retirada de todas as plantas de cada parcela experimental, para estudar a contribuição da FBN no ciclo da rebrota do sorgo.

3.3.6 Análise estatística

As variáveis biométricas foram submetidas à análise de variância (ANAVA), considerando os cinco sistemas de cultivo e as doses de molibdênio, como medidas repetidas no tempo. Nas variáveis nas quais foram observados efeitos significativos (Teste F, $p < 0,05$), foi realizada análise de regressão em função do tempo para cada dose e sistema de cultivo, sendo selecionado o modelo que apresentou maior coeficiente de determinação e os parâmetros significativos (Teste t, $p < 0,05$).

Para comparar os valores da produtividade de biomassa, nodulação, concentrações de N, ^{15}N , percentual de N derivado da atmosfera e as quantidades de N acumulado e fixado das leguminosas, além da transferência do N fixado nas leguminosas para o sorgo, os dados foram submetidos a análise de variância (ANAVA), considerando o arranjo fatorial 2 x 5 (doses de molibdênio x sistemas de cultivo) com quatro repetições, e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para as análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico ASSISTAT 7.7.

3.4 Experimento 2 (2º ciclo)

A mesma área de execução do experimento 1 foi utilizada para estudar a contribuição da FBN no ciclo da rebrota do sorgo. As leguminosas cultivadas no primeiro ciclo em consórcio com sorgo foram cortadas e deixadas sobre a superfície nas entrelinhas do sorgo. O experimento obedeceu ao mesmo delineamento em blocos casualizados (DBC), com os mesmos tratamentos. O sorgo e as leguminosas não foram semeados, mas o girassol, o algodão e a mamona foram semeados, da mesma forma anterior, em 10/10/2019.

As avaliações seguiram os protocolos do primeiro experimento, com medições da altura da planta (AP) e do diâmetro do colmo (DC) aos 30, 60, 90 e 120 dias após a semeadura (DAP). Os mesmos procedimentos de coleta de folhas e plantas e estimativa de BVPA, teor de umidade, BSPA, abundância natural do isótopo ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$), FBN e transferência de N, foram feitas como

descrito anteriormente para o experimento 1. As análises estatísticas também seguiram o mesmo modelo das feitas no experimento 1.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1 (1º ciclo)

4.1.1 Crescimento e produção do sorgo

Houve efeito das formas de cultivo nas alturas (Tabela 4) e nos diâmetros do colmo (Tabela 5) das plantas aos 60, 90 e 120 dias após o plantio, mas não aos 30 dias. Não houve diferenças significativas para doses de Mo e nem para as interações com as formas de cultivo.

Tabela 4 - Valores de p das análises de variâncias para altura de plantas aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	Dias após o plantio			
	30	60	90	120
Formas de cultivo	0,4817 ^{ns}	0,0061 ^{**}	0,0009 ^{**}	0,0101 [*]
Doses de Mo	0,7380 ^{ns}	0,7090 ^{ns}	0,5519 ^{ns}	0,9265 ^{ns}
Formas de cultivo x doses	0,5971 ^{ns}	0,2549 ^{ns}	0,4089 ^{ns}	0,3602 ^{ns}
CV%	18	17	17	13

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

Tabela 5 - Valores de p das análises de variâncias para diâmetro do colmo aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

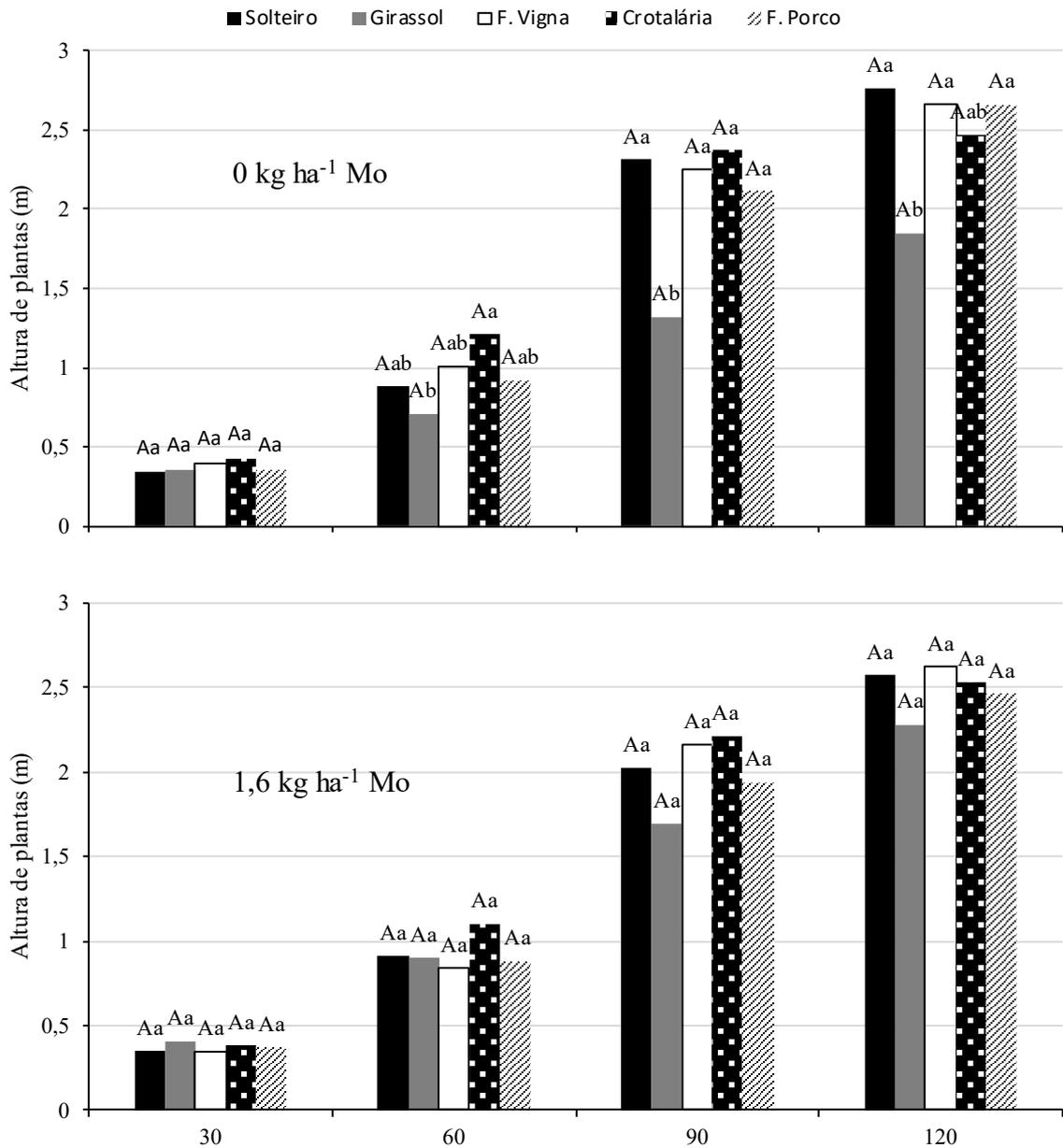
Fonte de Variação	Dias após o plantio			
	30	60	90	120
Forma de cultivo	0,5994 ^{ns}	0,0113 [*]	<,0001 ^{**}	<,0001 ^{**}
Dose de Mo	0,9003 ^{ns}	0,2832 ^{ns}	0,9061 ^{ns}	0,6262 ^{ns}
Dose x forma de cultivo	0,8084 ^{ns}	0,2396 ^{ns}	0,7150 ^{ns}	0,6383 ^{ns}
CV%	21	20	14	10

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

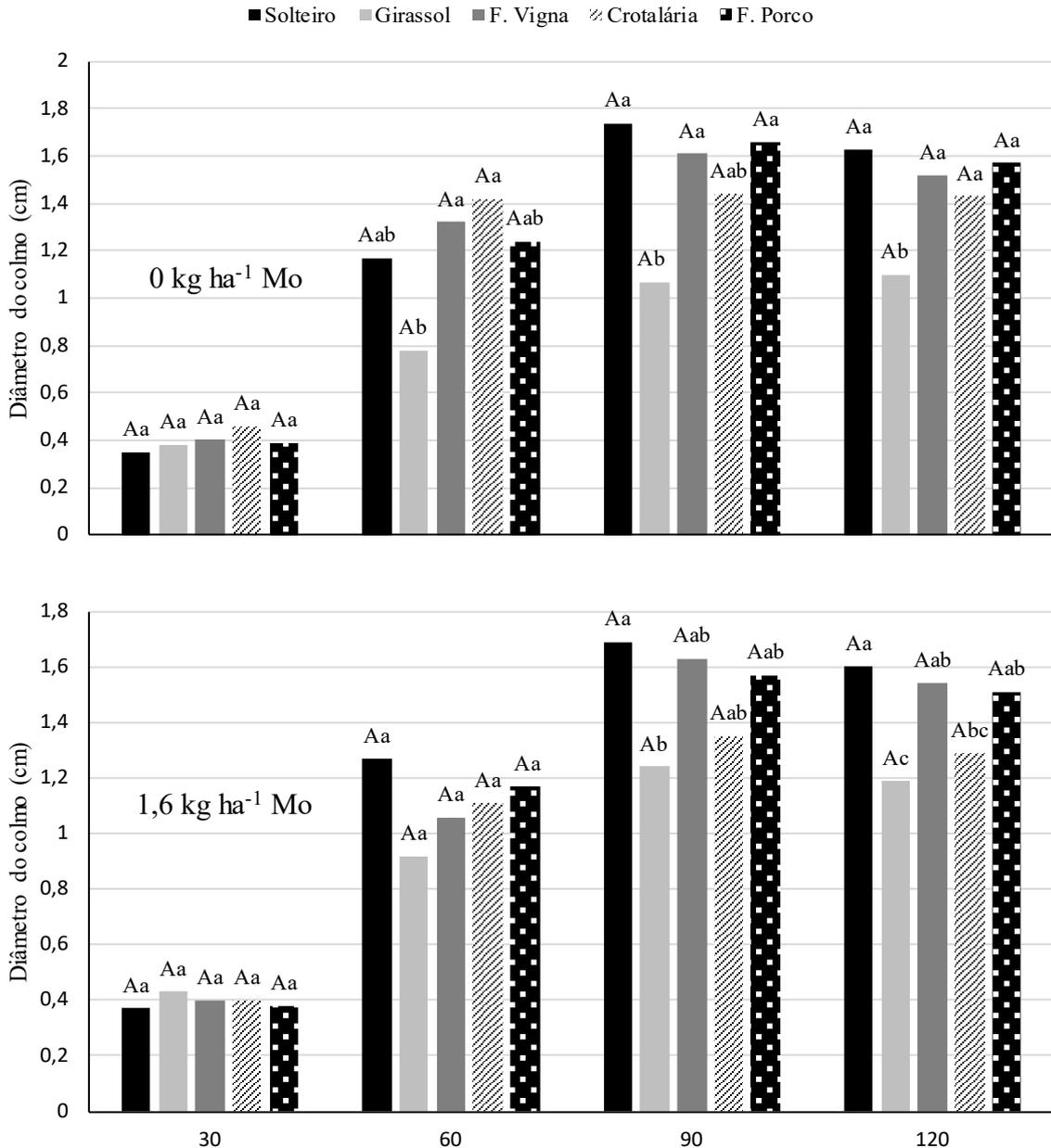
As menores alturas e diâmetros das plantas do sorgo, aos 60, 90 e 120 dias após o plantio, ocorreram no consórcio com girassol (Figuras 20 e 21). Entretanto, as menores alturas só foram significativamente diferentes na ausência de aplicação de Mo. Apesar da ausência de interação significativa, indica que houve uma tendência para o aumento, com aplicação de Mo, da altura e do diâmetro de plantas de sorgo quando consorciadas com girassol.

Figura 20 - Altura de plantas (m) de sorgo IPA 467, aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio (DAP), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019.



Colunas com letras iguais, maiúsculas, não diferem estatisticamente de acordo com as doses de Mo aplicadas, para uma mesma forma de cultivo. Colunas com letras iguais, minúsculas, não diferem estatisticamente entre formas de cultivo, no mesmo tempo (DAP), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 21 - Diâmetro do colmo (cm) de sorgo IPA 467, aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio (DAP), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019.



Colunas com letras iguais, maiúsculas, não diferem estatisticamente de acordo com as doses de Mo aplicadas, para uma mesma forma de cultivo. Colunas com letras iguais, minúsculas, não diferem estatisticamente entre formas de cultivo, no mesmo tempo (DAP), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Como encontrado para altura das plantas e diâmetros dos colmos, só as formas de cultivo diferiram significativamente quanto às biomassas, concentrações e conteúdo de N no sorgo colhido aos 120 dias (Tabela 6). Doses de Mo e a interação com as formas de cultivo não foram significativas.

Tabela 6 - Valores de p das análises de variâncias para biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa das plantas de sorgo sob diferentes formas de cultivo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	Biomassa Seca	Concent. de N	Conteúdo de N	Concent. de C	C/N	C da Biomassa
Forma de cultivo	0,0009**	0,0229*	0,0007**	0,3052 ^{ns}	0,0263*	0,0007**
Dose de Mo	0,9779 ^{ns}	0,4672 ^{ns}	0,7430 ^{ns}	0,7494 ^{ns}	0,6444 ^{ns}	0,9483 ^{ns}
Dose x forma de cultivo	0,8336 ^{ns}	0,3394 ^{ns}	0,7179 ^{ns}	0,7639 ^{ns}	0,2818 ^{ns}	0,8263 ^{ns}
CV (%)	19	8	18	2	14	19

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

As biomassas do sorgo foram maiores quando cultivado solteiro (2810 kg ha⁻¹) ou em consórcio com feijão macassa (2369 kg ha⁻¹) que quando cultivado com o girassol (1093 kg ha⁻¹), sem diferenças significativas em relação às outras duas leguminosas (Tabela 7). No sentido inverso, a concentração de N foi menor no cultivo solteiro que no consórcio com crotalária, mas todas em uma faixa relativamente estreita (8,9 a 11,9 g kg⁻¹). Assim, os conteúdos de N foram mais influenciados pelas biomassas, ficando bem abaixo no consórcio com girassol (10,9 kg ha⁻¹) que nos outros sistemas de cultivo (22,3 a 29,3 kg ha⁻¹).

A concentração de C não diferiu significativamente e manteve-se entre a faixa de 410 a 420 g kg⁻¹. Desta forma, as altas relações C/N foram influenciadas pelas baixas concentrações de N dos tratamentos, o sorgo cultivado de forma solteiro teve a maior relação C/N (46/1) diferindo do sorgo em consórcio com crotalária (36/1). Como a concentração de C manteve-se numa faixa estreita e não diferindo significativamente, o C da biomassa apresentou uma relação direta com a biomassa seca, promovendo maior estoque de C no cultivo de sorgo solteiro e nos consórcios com feijão de porco e macassa.

Tabela 7 - Biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa das plantas de sorgo em diferentes sistemas de cultivo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Formas de cultivo do sorgo	Biomassa Seca (kg ha ⁻¹)	Concentração de N (g kg ⁻¹)	Conteúdo de N (kg ha ⁻¹)	Concentração de C (g kg ⁻¹)	C/N	C da Biomassa (kg ha ⁻¹)
Cultivado solteiro	2810 a	8,9 b	24,4 a	410,2 a	46 a	1153 a
Consórcio com girassol	1093 b	10,6 ab	10,9 b	410,2 a	40 ab	452 b
Consórcio com feijão de porco	2680 a	10,7 ab	29,3 a	410,6 a	39 ab	1119 a
Consórcio com crotalária	1989 ab	11,9 a	22,3 a	420,0 a	36 b	825 ab
Consórcio com feijão macassa	2369 a	9,9 ab	23,3 a	410,0 a	41 ab	974 a
DMS	1273	2,5	12,5	143,2	8	516

DMS: Diferença mínima significativa.

Médias seguidas de mesma letra minúscula (coluna), não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

4.1.2 Biomassas e estoques de N e C nas leguminosas e no sorgo

Os valores de p das análises de variâncias referentes a biomassa seca aérea, concentração de N, N total acumulado, concentração de C total relação C/N e C da biomassa das leguminosas consorciadas com sorgo aos 90 dias após o plantio (DAP) encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8 - Valores de p das análises de variâncias para biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C fixado das diferentes espécies utilizadas no consorcio com sorgo aos 90 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	Biomassa Seca	Concentração de N	Conteúdo de N	Concentração de C	Relação C/N	C Fixado
Forma de cultivo	0,0101*	0,1621 ^{ns}	0,0366*	0,0914 ^{ns}	0,2855 ^{ns}	0,0042**
Dose de Mo	0,7456 ^{ns}	0,8971 ^{ns}	0,6903 ^{ns}	0,4749 ^{ns}	0,9173 ^{ns}	0,8125 ^{ns}
Dose x forma de cultivo	0,5852 ^{ns}	0,5434 ^{ns}	0,6052 ^{ns}	0,4155 ^{ns}	0,6876 ^{ns}	0,3937 ^{ns}
CV (%)	22	16	47	2	9	7

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns} Não significativo ($p \geq 0,05$).

Houve efeito significativo apenas para forma de cultivo quanto a biomassa seca aérea, conteúdo de N e C da biomassa. Doses de Mo e suas interações com as formas de cultivo não foram significativas.

Tabela 9 - Biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa de leguminosas consorciadas com sorgo aos 90 dias após o plantio. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Espécies	Biomassa (kg ha ⁻¹)	Concentração de N (g kg ⁻¹)	Conteúdo de N (kg ha ⁻¹)	Concentração de C (g kg ⁻¹)	Relação C/N	C da biomassa (kg ha ⁻¹)
Feijão macassa	5001 a	31,2 a	153,5 a	410,4 a	13 a	693 a
Crotalária	2867 ab	37,6 a	104,9 ab	418,1 a	11 a	328 b
Feijão de porco	1834 b	33,2 a	63,5 b	401,9 a	12 a	221 b
DMS	2533	8,6	80,7	179,6	4,1	422

DMS: Diferença mínima significativa.

Médias seguidas de mesma letra minúscula (coluna), não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na época do corte das plantas, aos 90 dias após o plantio, o feijão macassa produziu mais do dobro da biomassa aérea seca do feijão de porco (Tabela 9). A produção de crotalária foi superior à encontrada por Dantas (2014), que obteve 1583 kg ha⁻¹ em consórcio com o maracujá, em local próximo ao do presente estudo, na mesma propriedade. Porém, nesta mesma pesquisa, a produção de feijão de porco foi bem maior (5152 kg ha⁻¹) que os valores encontrados

neste presente trabalho. Isto sugere que, o feijão de porco pode ter sido mais prejudicado pelo sombreamento provocado pelo sorgo que as outras leguminosas.

Não houve diferença significativa entre as formas de cultivo quanto às concentrações de N e de C da biomassa das leguminosas e nem quanto às relações C/N. As concentrações de C seguiram o padrão usual em plantas (em torno de 400 g kg⁻¹) e as de N foram relativamente altas (31 a 38 g kg⁻¹), como é comum de leguminosas, especialmente as nodulantes. As baixas relações C/N (11 a 14) indicam facilidade na decomposição e liberação de N quando a biomassa é incorporada ao solo. Como as concentrações variaram pouco, os conteúdos de N seguiram as tendências das biomassas e foram maiores no feijão macassa (154 kg ha⁻¹) que no feijão de porco (64 kg ha⁻¹) e intermediárias na crotalária (105 kg ha⁻¹).

4.1.3 Estimativa do N fixado nas leguminosas

Os valores de p das análises de variância demonstram efeito significativo para $\delta^{15}\text{N}$ e N fixado apenas para a forma de cultivo, sem efeito para doses de Mo e sua interação com as formas de cultivo (Tabela 10).

Tabela 10 - Valores de p das análises de variâncias para $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N_{dda}) e N fixado das diferentes espécies utilizadas no consórcio com sorgo aos 90 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	$\delta^{15}\text{N}$	N _{dda}	N Fixado
Forma de cultivo	<,0001**	0,2773 ^{ns}	0,0175*
Dose de Mo	0,1048 ^{ns}	0,3870 ^{ns}	0,8302 ^{ns}
Dose de Mo x forma de cultivo	0,5221 ^{ns}	0,2591 ^{ns}	0,6414 ^{ns}
CV (%)	19	8	45

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

A média dos sinais de $\delta^{15}\text{N}$ das espécies referência foi de 11,01‰, e os sinais das leguminosas foram todos significativamente menores (Tabela 11), indicando que as leguminosas obtiveram N da atmosfera. Como, além de significativas, as diferenças entre os sinais das leguminosas e os das espécies referência foram superiores ao valor recomendado para estimativas confiáveis da FBN (2‰, de acordo com HÖGBERG, 1997), foram feitos os cálculos para estimativa dos %N_{dda}.

As três espécies leguminosas fixaram altas proporções (>80%) de nitrogênio atmosférico aos 90 dias após o plantio, com destaque para o feijão macassa com 93% do N

acumulado advindo da FBN (Tabela 11). Estes resultados corroboram os dados encontrados por Dantas et al. (2014), que obtiveram valores de %N_{dda} para as mesmas espécies e na mesma propriedade variando de 83 a 88%. Contribuições de N da atmosfera para o N total nas plantas acima de 50% são comumente reportadas nestas e outras espécies de leguminosas (Castro et al. 2004; Resende et al. 2003; Paulino et al. 2009).

A maior quantidade de N adicionado ao sistema via FBN veio do feijão macassa, chegando a 143 kg ha⁻¹, mostrando que a quantidade de N fixado pelos diferentes adubos verdes dependeu, principalmente, da capacidade de produção de biomassa. Dantas et al. (2014) encontraram quantidades de N fixado em consórcio com maracujá na mesma faixa, mas com superioridade do feijão de porco (158 kg ha⁻¹) em relação à crotalária (43 kg ha⁻¹).

Tabela 11 - Valores de $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (N_{dda}) e N fixado (kg ha⁻¹) das diferentes espécies utilizadas em consórcio com sorgo aos 90 dias após o plantio. IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Espécies	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N _{dda} (%)	N Fixado (kg ha ⁻¹)
Referência	11,01 a	-	-
Girassol	10,39 a	-	-
Feijão de porco	1,59 b	86,3 a	54 b
Crotalária	1,44 b	87,6 a	90 ab
Feijão macassa	0,80 b	93,0 a	143 a
DMS	2,87	6,28	33,05

DMS: Diferença mínima significativa.

Médias seguidas de mesma letra minúscula (coluna), não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

4.1.4 FBN no sorgo e da transferência de N das leguminosas

Como nas medidas anteriores, só houve significância para as formas de cultivo (Tabela 12). Os sinais de $\delta^{15}\text{N}$ do sorgo em todos os tratamentos foram significativamente menores e com mais de 2‰ de diferença em relação às plantas de referência (Tabela 13), indicando que as plantas de sorgo obtiveram N da atmosfera, por fixação própria no caso do cultivo solteiro e do consórcio com o girassol e tanto por fixação própria quanto por transferência do N fixado nas leguminosa, quando consorciado com elas. As proporções do N vindo da atmosfera (%N_{dda}) no sorgo solteiro e consorciado com o girassol foram semelhantes (23,8 e 26,6 %, respectivamente), correspondendo a quantidades fixadas relativamente pequenas (6,0 e 2,8 kg ha⁻¹), mais por conta dos baixos conteúdos de N (24,4 e 10,9 kg ha⁻¹) que das %N_{dda}. Estes resultados comprovam a capacidade de fixação das gramíneas, incluindo o sorgo observadas

em outras pesquisas (CARVALHO et al. 2017; FERREIRA NETO et al. 2017; SANTOS et al. 2017; BARROS et al. 2020).

Tabela 12 - Valores de p das análises de variâncias para $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (Ndda), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	$\delta^{15}\text{N}$	Ndda	N da Atmosfera	N Transferido
Forma de cultivo	<0,001**	0,0020**	<0,001**	0,0291*
Dose de Mo	0,4475 ^{ns}	0,4475 ^{ns}	0,8464 ^{ns}	0,1516 ^{ns}
Dose de Mo x forma de cultivo	0,6141 ^{ns}	0,6141 ^{ns}	0,2665 ^{ns}	0,9537 ^{ns}
CV (%)	14	31	20	50

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

Tabela 13 - Valores de $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (Ndda), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo aos 120 dias após o plantio (DAP). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Forma de cultivo do sorgo	$\delta^{15}\text{N}$ (%)	Ndda (%)	N da atmosfera (kg ha ⁻¹)	N Transferido	
				(%)	(kg ha ⁻¹)
Referência	11,01 a	-	-	-	-
solteiro	8,88 b	23,8 b	6,0 a	-	-
Consórcio com girassol	8,55 b	26,6 b	2,8 b	-	-
Consórcio com feijão de porco	7,82 bc	32,8 ab	9,2 a	11,4 ab	1,0
Consórcio com crotalária	6,35 c	45,5 a	9,5 a	25,7 a	2,4
Consórcio com feijão macassa	8,01 bc	31,2 ab	7,1 a	8,4 b	0,5
DMS	2,02	14,65	2,33	14,9	-

DMS: Diferença mínima significativa.

Médias seguidas de mesma letra minúscula (coluna), não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O valor de $\delta^{15}\text{N}$ foi significativamente maior nas plantas de sorgo cultivadas de forma solteira e em consórcio com girassol que nas plantas em consórcio com a crotalária (Tabela 8), mas não houve diferença significativa quanto aos consórcios com as outras duas leguminosas. Isto indica que houve transferência do N fixado pela crotalária para as plantas de sorgo (25,7%, correspondendo a 2,4 kg ha⁻¹), mas é possível que não tenha havido ou tenham sido muito baixas as transferências do feijão de porco e do feijão macassa. De todo modo, foram também incluídas nos cálculos as possíveis transferências das outras leguminosas para o sorgo, apenas para evidenciar que, se ocorreram, foram muito baixas (8 e 11%, correspondendo a 0,5 e 1,0 kg ha⁻¹, respectivamente). É importante notar que essa transferência aconteceu antes do corte da leguminosa, sendo provavelmente devida à absorção de N mineralizado pela decomposição de raízes, nódulos e folhas já caídas e à transferência por hifas de fungos micorrízicos. É esperado

que o sorgo absorva mais do N da biomassa das leguminosas durante o processo de decomposição, após sua incorporação ou mesmo deposição na superfície do solo. Entre 20 e 40% do N de bananeira foram transferidos do N fixado nas leguminosas consorciadas amendoim forrageiro, cudzu tropical e siratro (ESPÍNDOLA et al. 2006) e proporções pouco acima (40 e 44%) do N de graviola e de manga transferidas por crotalária (PAULINO et al. 2009) e em maracujá transferido por feijão de porco (DANTAS et al. 2014), respectivamente.

4.2 Experimento 2 (2º Ciclo de cultivo)

4.2.1 Crescimento e produção do sorgo

Não houve diferença significativa das formas de cultivo, doses de Mo e nem para as interações nas alturas (Tabela 14) e nos diâmetros do colmo (Tabela 15) das plantas aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC).

Tabela 14 - Valores de p das análises de variâncias para altura de plantas aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	Dias após o corte		
	30	60	90
Formas de cultivo	0,3165 ^{ns}	0,1429 ^{ns}	0,6497 ^{ns}
Doses de Mo	0,9270 ^{ns}	0,6303 ^{ns}	0,8833 ^{ns}
Formas de cultivo x doses	0,6441 ^{ns}	0,4461 ^{ns}	0,2376 ^{ns}
CV%	19	25	21

CV: coeficiente de variação.

^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

Tabela 15 - Valores de p das análises de variâncias para diâmetro do colmo aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

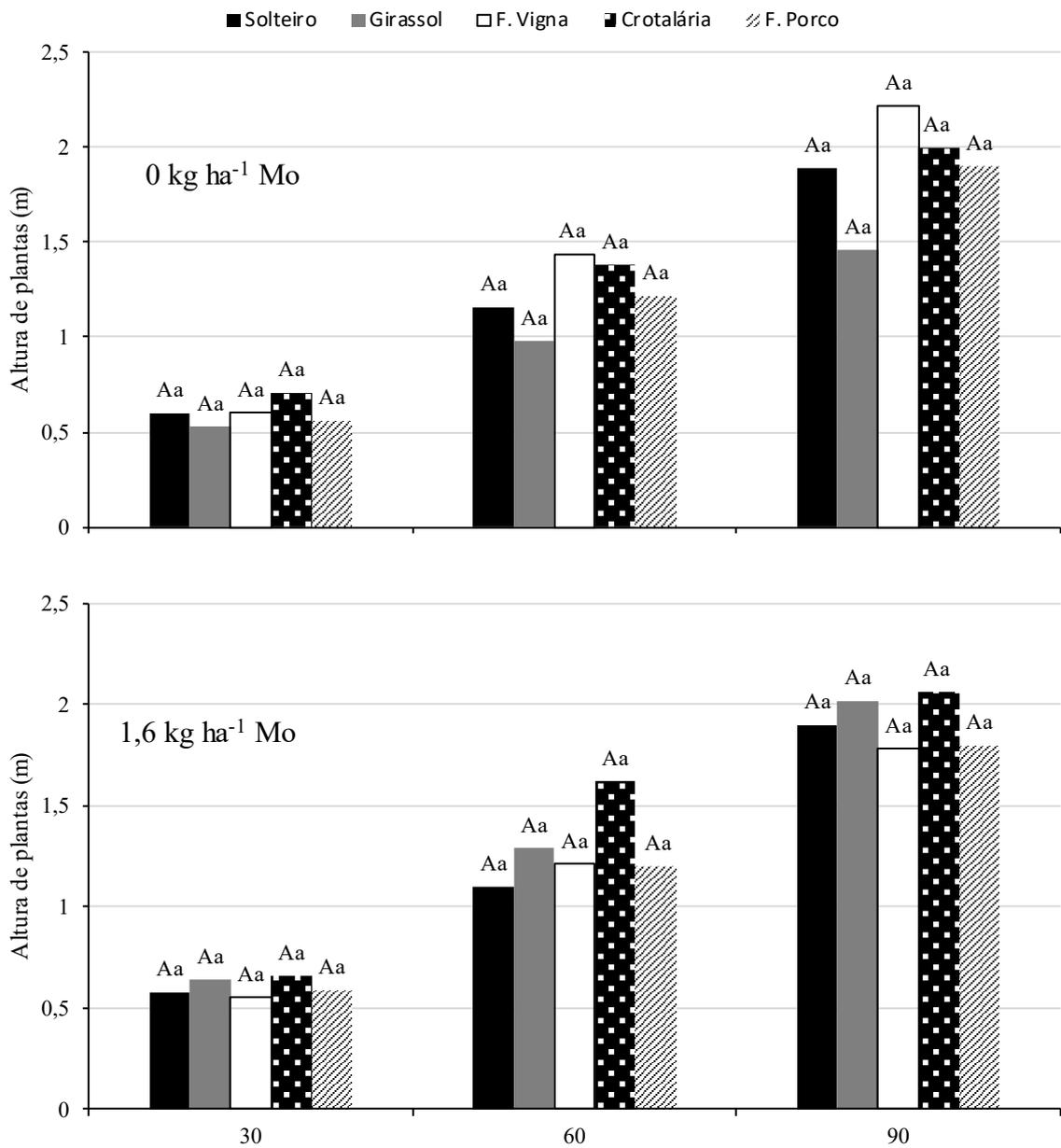
Fonte de Variação	Dias após o corte		
	30	60	90
Formas de cultivo	0,5214 ^{ns}	0,7437 ^{ns}	0,7913 ^{ns}
Doses de Mo	0,7611 ^{ns}	0,9468 ^{ns}	0,9190 ^{ns}
Formas de cultivo x doses	0,6452 ^{ns}	0,2791 ^{ns}	0,3779 ^{ns}
CV%	19	17	14

CV: coeficiente de variação.

^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

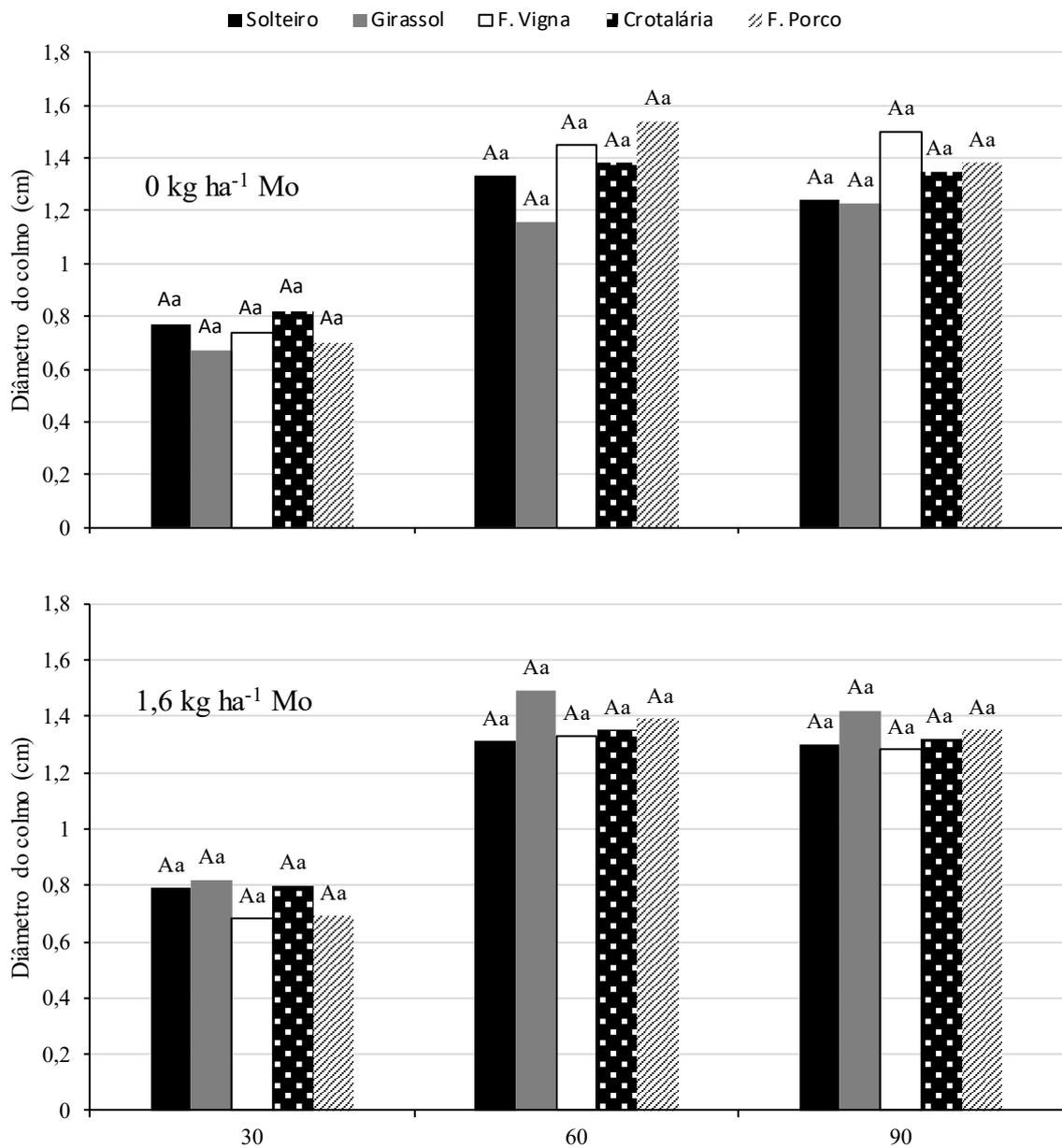
Apesar da ausência de interação significativa, indica que houve uma tendência para o aumento, com aplicação de Mo, da altura e do diâmetro de plantas de sorgo quando consorciadas com girassol (Figuras 22 e 23).

Figura 22 - Altura de plantas (m) de sorgo IPA 467, aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019.



Colunas com letras iguais, maiúsculas, não diferem estatisticamente de acordo com as doses de Mo aplicadas, para uma mesma forma de cultivo. Colunas com letras iguais, minúsculas, não diferem estatisticamente entre formas de cultivo, no mesmo tempo (DAP), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 23 - Diâmetro do colmo (cm) de sorgo IPA 467, aos 30, 60 e 90 dias após o corte (DAC), em função das doses de molibdênio e formas de cultivo. IFPE - Belo Jardim, PE. 2019.



Colunas com letras iguais, maiúsculas, não diferem estatisticamente de acordo com as doses de Mo aplicadas, para uma mesma forma de cultivo. Colunas com letras iguais, minúsculas, não diferem estatisticamente entre formas de cultivo, no mesmo tempo (DAP), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 16 - Valores de p das análises de variâncias para biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C da biomassa das plantas de sorgo no segundo ciclo sob diferentes formas de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	Biomassa Seca	Concent. de N	Conteúdo de N	Concent. de C	C/N	C da Biomassa
Forma de cultivo	0,0079**	0,2352 ^{ns}	0,0858 ^{ns}	0,0202*	0,1579 ^{ns}	0,0057**
Dose de Mo	0,7180 ^{ns}	0,2233 ^{ns}	0,7151 ^{ns}	0,8947 ^{ns}	0,2522 ^{ns}	0,7158 ^{ns}
Dose x forma de cultivo	0,9871 ^{ns}	0,6486 ^{ns}	0,9948 ^{ns}	0,3684 ^{ns}	0,6300 ^{ns}	0,9897 ^{ns}
CV (%)	43	8	26	1	17	43

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

A biomassa do sorgo foi maior quando cultivado em consórcio com crotalária (3267 kg ha⁻¹) que quando cultivado solteiro (1772 kg ha⁻¹) e em consórcio com girassol (1441 kg ha⁻¹), sem diferenças significativas em relação ao consórcio com feijões de porco e macassa (Tabela 17). No sentido inverso, a concentração de N, mesmo que sem diferenças significativas, foram maiores no sorgo solteiro. As concentrações de N concentraram-se em uma faixa estreita (6,8 a 8,2 g kg⁻¹). Porém, com valores médios abaixo dos encontrados no experimento 1 (8,9 a 11,9 g kg⁻¹). Como encontrado para o experimento 1, os conteúdos de N foram mais influenciados pela biomassa ficando com menores valores no consórcio com girassol e no cultivo solteiro (10,3 e 14,7 kg ha⁻¹) que nos outros sistemas de cultivo (18,2 a 23 kg ha⁻¹).

As concentrações de C nas plantas de sorgo mantiveram o padrão em torno de 400 g kg⁻¹. Entretanto, as concentrações foram maiores quando cultivado em consórcio com crotalária (415,6 g kg⁻¹) que quando cultivado com girassol (401,7 g kg⁻¹). A relação C/N embora sem diferença estatística apresentou valores médios, comparativos, superiores que quando comparado ao primeiro ciclo, isto ocorreu devido a diminuição da concentração de N no segundo ciclo.

Tabela 17 - Biomassa seca aérea, concentração de N, conteúdo de N, concentração de C, relação C/N e C fixado das plantas de sorgo no segundo ciclo sob diferentes formas de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.

Formas de cultivo do sorgo	Biomassa Seca (kg ha ⁻¹)	Concent. de N (g kg ⁻¹)	Conteúdo de N (kg ha ⁻¹)	Concent. de C (g kg ⁻¹)	C/N	C da Biomassa (kg ha ⁻¹)
Cultivado solteiro	1772 b	8,2 a	14,7 a	406,5 ab	51 a	720 b
Consórcio com girassol	1441 b	7,5 a	10,3 a	401,7 b	54 a	578 b
Consórcio com feijão de porco	2773 ab	6,8 a	20,8 a	406,9 ab	61 a	1126 ab
Consórcio com crotalária	3267 a	7,0 a	23,0 a	415,6 a	60 a	1360 a
Consórcio com feijão macassa	2291 ab	7,8 a	18,2 a	409,1 ab	53 a	936 ab
DMS	1469	2,1	13,1	11,1	14,1	602,5

DMS: Diferença mínima significativa.

Médias seguidas de mesma letra minúscula (coluna), não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Uma hipótese é que essa inversão nos resultados no segundo ciclo de cultivo e o aumento da biomassa seca do sorgo consorciado com crotalária, podem estar relacionados à alteração do microbioma do solo do primeiro para o segundo ciclo. Quando em sistema de consórcio com leguminosas, o padrão de exsudação radicular pode ser diferente do que ocorre na gramínea na forma de monocultivo, estimulando a proliferação de uma série de grupos bacterianos e fúngicos que as gramíneas isoladamente não estimulam. Desta forma, as plantas de sorgo na rebrota, que estiveram em consórcio com a crotalária, podem ter sido beneficiadas por uma diversidade microbiana diferente, com maior capacidade de associação e promoção do crescimento vegetal, e mineralização de N, P, Mg e Ca.

Em trabalho feito por Araújo et al. (2019), avaliando a biomassa e a atividade microbiana em solo cultivado com milho consorciado com leguminosas de cobertura, os consórcios de milho com *Crotalaria juncea* e guandu-anão contribuíram com o aumento do carbono da biomassa microbiana e do quociente microbiano, com valores semelhantes aos do solo sem intervenção antrópica. Neste mesmo trabalho, os autores concluíram ainda que o sistema com milho solteiro acarretou condições de estresse ou distúrbio da comunidade microbiana, em comparação aos sistemas consorciados e à vegetação nativa, que se mostraram mais equilibrados.

4.2.2 FBN no sorgo e da transferência de N das leguminosas

De forma oposta ao que ocorreu no experimento 1, os valores de p das análises de variância demonstram que não houve efeito significativo para $\delta^{15}\text{N}$, N_{dda}, N da atmosfera e N transferido para a forma de cultivo, doses de Mo e sua interação com as formas de cultivo (Tabela 18).

Com comportamento semelhante ao primeiro experimento, os sinais de $\delta^{15}\text{N}$ das plantas referência apresentaram média de 11,26‰ e os sinais de todos os tratamentos foram significativamente menores (Tabela 19), indicando que as plantas de sorgo obtiveram N da atmosfera, por fixação própria no caso do cultivo solteiro e no consórcio com o girassol e tanto por fixação própria quanto por transferência do N fixado nas leguminosa, quando consorciado com elas. Como, além de significativa, a diferença entre os sinais das plantas de sorgo e o da espécie referência foram superiores ao valor recomendado para estimativas confiáveis da FBN (2‰, de acordo com HÖGBERG, 1997) foram feitos os cálculos para estimativa dos %N_{dda}.

As proporções do N atmosférico (%N_{dda}) e N da atmosfera foram semelhantes em todos os tratamentos, correspondendo a quantidades fixadas entre 3,2 e 7,5 kg ha⁻¹. Era esperado que

o sorgo absorvesse mais do N da biomassa das leguminosas durante o processo de decomposição, após sua deposição na superfície do solo. Porém, as quantidades fixadas ficaram abaixo dos valores encontrados no primeiro experimento (9,5 a 2,8 kg ha⁻¹).

É possível que não tenha havido ou tenham sido muito baixas as transferências do N das leguminosas que ficaram depositadas na superfície do solo para o sorgo (<8% e 0,5 kg ha⁻¹). Para Espíndola et al (1997), não se deve esperar respostas imediatas uma vez que os benefícios oriundos da adição de matéria orgânica ao solo são mais significativos a médio e longo prazo. Para este mesmo autor, é através do contínuo suprimento de material orgânico ao solo que é possível garantir a manutenção e/ou recuperação de sua fertilidade.

Tabela 18 - Valores de p das análises de variâncias para $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (Ndda), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo no segundo ciclo de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo jardim (PE). 2019.

Fonte de Variação	$\delta^{15}\text{N}$	Ndda	N da Atmosfera	N Transferido
Forma de cultivo	0,9366 ^{ns}	0,9366 ^{ns}	0,2222 ^{ns}	0,9160
Dose de Mo	0,3629 ^{ns}	0,3629 ^{ns}	0,7337 ^{ns}	0,4197
Dose de Mo x forma de cultivo	0,5747 ^{ns}	0,5747 ^{ns}	0,9499 ^{ns}	0,4352
CV (%)	16	35	34	40

CV: Coeficiente de variação.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey; ^{ns}Não significativo ($p \geq 0,05$).

Tabela 19 - Valores de $\delta^{15}\text{N}$, N derivado da atmosfera (Ndda), N da atmosfera e N transferidos das leguminosas consorciadas para o sorgo no segundo ciclo de cultivo aos 90 dias após o corte (DAC). IFPE, Belo Jardim (PE). 2019.

Forma de cultivo do sorgo	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Ndda (%)	N da Atmosfera (kg ha ⁻¹)	N Transferido (%)	N Transferido (kg ha ⁻¹)
Referência	11,2 a	-	-	-	-
Solteiro	8,1 b	28,8 a	4,6 a	-	-
Consórcio com girassol	7,8 b	31,9 a	3,2 a	-	-
Consórcio com feijão de porco	7,6 b	33,1 a	6,6 a	5,7 a	0,37
Consórcio com crotalária	7,6 b	32,8 a	7,5 a	7,3 a	0,54
Consórcio com feijão macassa	7,9 b	31,0 a	5,2 a	4,0 a	0,20
DMS	1,6	16,2	5,4	13,66	-

DMS: Diferença mínima significativa.

Médias seguidas de mesma letra minúscula (coluna), não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

5 CONCLUSÕES

1. Não houve benefício da aplicação de molibdênio para a fixação biológica do nitrogênio no sorgo, nos dois ciclos de cultivo
2. A FBN contribuiu com 23% (6,0 kg ha⁻¹) do N nas plantas de sorgo cultivado sem consórcio, no primeiro ciclo, e 28% (4,6 kg ha⁻¹) no segundo ciclo de cultivo.
3. A FBN contribuiu com 86% a 93% de N nas leguminosas.
4. A transferência do N no consórcio com crotalária contribuiu com 25,7% (2,4 kg ha⁻¹) e 7,3% (0,54 kg ha⁻¹) no segundo ciclo do N do sorgo. Portanto, a FBN do sorgo e o benefício do consórcio com leguminosas foram confirmados.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A proposta de se estudar, bioprospectar e avaliar bactérias fixadoras de nitrogênio em leguminosas é uma linha já consolidada no Brasil. No entanto essa linha ainda carece de estudos em relação a gramíneas forrageiras, sobretudo ao sorgo e em condições semiáridas. O melhor entendimento dos processos microbianos pode trazer grande contribuição, principalmente para a região semiárida, na redução e/ou suprimento de adubação nitrogenada, recuperação, manejo adequado, práticas agrícolas mais sustentáveis e conservação dos solos. Para isto, futuros estudos são necessários, visando o melhor entendimento deste processo. Tem-se como exemplo a soja, para culturas leguminosas, cuja interação já é amplamente consolidada e conhecida.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ V., V.H.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; CANTARUTTI, R.B.; LOPES, A.L. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V., V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais 5ª Aproximação**. Viçosa: CFSEMG, p. 25-32, 1999.
- ALVES, B.J.R.; ZOTARELLI, L.; JANTALIA, C.P.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e do nitrogênio no sistema solo-planta. In: AQUINO, A.M.; ASSIS, R.L. (Eds.) **Processos biológicos no sistema solo-planta**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.343-368, 2005.
- ALVES, G.C.; VIDEIRA, S.S.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant and Soil**, 387, p.307-321, 2015.
- AMIRA, C.D. Small grains in monogastric and ruminant feed formulations: prospects and problems. In: GOMEZ, M.I.; HOUSE, L.R.; ROONEY, L.W.; DENDY, D.A.V. **Utilization of sorghum and millets**. Patancheru: INCRISAT, p.182-190, 1992.
- ANDRADE, M.C. **A problemática da seca**. Recife: Líber Gráfica, 1999.
- ARAÚJO FILHO, J.A. Manipulação da vegetação lenhosa da caatinga para fins pastoris. **EMBRAPA-CNPC, Circular Técnica 11**, 18p, 1992.
- ARAUJO, T.S.; GALLO, A.S.; ARAUJO, F.S.; SANTOS, L.C.; N.F.G.; SILVA, R.F. Biomassa e atividade microbiana em solo cultivado com milho consorciado com leguminosas de cobertura. **Revista de Ciências Agrárias**, v42, 2019.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SAMPAIO, M.J.A.M.; DÖBEREINER, J. A fourth *azospirillum* species from cereal roots. **Anais da Academia Brasileira de Ciência** 56: 365. 1984.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.36, p.86-93, 1986.
- BALDANI, J.I.; TEIXEIRA, K.R.S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F.L.; HEMERLY, A.S.; SEGUNDO URQUIAGA; REIS, V.M.; NOGUEIRA, E.M.; ARAUJO, J.L.S.; BORGES, L. E.; SOARES, L.H.B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V.L.D.; CARVALHO, T.L.G.; ALVES, B.J.R.; JAMES, E.K; JANTALIA, C.P.; FERREIRA, P.C.G.; VIDAL, M.S.; BODDEY, R.M. Fixação biológica de nitrogênio em plantas da família Poaceae (antiga Gramínea) In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.; BARROS, N.F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L.M. (Eds.). **Tópicos em Ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.6, p.203-271, 2009
- BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I.; OLIVARES, F.L.; DÖBEREINER, J. Identification and ecology of *Herbaspirillum seropedicae* and the closely related *Pseudomonas rubusubalbica*. **Symbiosis**, v.13, p.65-73, 1992.

BALDANI, V.L.D.; OLIVEIRA, R.; BOLATA, E.; BALDANI, J.I.; KIRCHHOG, G.; DÖBEREINER, J. *Burkholderia brasiliensis* sp. nov., uma nova espécie de bactéria diazotrófica endofítica. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.69, p.116-116, 1997.

BARCELOS, A.O.; VILELA L. Leguminosas forrageiras tropicais: Estado de arte e perspectivas futuras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FORRAGICULTURA, 1994, Maringá, **Anais...**, UEM/SBZ, p.1-56, 1994.

BARROS, B.G.F.; FREITAS, A.D.S.; TABOSA, J.N.; LYRA, M.C.C.P.; MERGULHÃO, A.C.E.S.; SILVA, A.F.; OLIVEIRA, W.S.; FERNANDES-JÚNIOR, P.I.; SAMPAIO, E.V.S.B. Biological nitrogen fixation in field-grown sorghum under different edaphoclimatic conditions is confirmed by N isotopic signatures. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v.117, p.93-101, 2020.

BERGAMASCHI, C.; ROESCH, L.F.W.; QUADROS, P.D.; CAMARGO, A.O. Occurrence of diazotrophic bacteria associated with forage sorghum cultivars. **Ciência Rural**, v.37, p.727-733, 2007.

BODDEY, R.M., PEOPLES, M.B., PALMER, B.; DART, P.J. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**. v.57, p.235- 270, 2000.

BORÉM, A.; PIMENTEL, L.; PARRELLA, R. (Ed.). **Sorgo: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: UFV, p.188-206, 2014.

CANFIELD, D.; GLAZER, A.; FALKOWSKI, P. The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. **Science**, v.330, n.6001, p.192-196, 2010.

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento-Coordenadoria da Pesquisa Agropecuária. 1996.

CANTARUTTI, R.B.; BODDEY, R.M. Transferência de nitrogênio das leguminosas para as gramíneas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1, Viçosa, **Anais...**, DZO, p.431-445, 1997.

CARVALHO, E.X.; MENEZES, R.S.C., FREITAS, A.D.S.; SAMPAIO, E.V.S.B.; NETO, D.E.S.; TABOSA, J.N.; PRIMO D.C.; QUEIROZ, R.O. The ^{15}N natural abundance technique to assess the potential of biological nitrogen fixation (BNF) in some important C4 grasses. **Australian Journal of Crop Science**, v.11, p.1559-1564, 2017.

CASTRO, C.M.; ALVES, B.J.R.; ALMEIDA, D.L. & RIBEIRO, R.L.D. Adubação verde como fonte de N para a cultura da berinjela em sistema orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.779-785, 2004.

CHIARAMONTI, D., AGTEERBEG, A., GRASI, G., GRIMM, H.P., CODA, B. Large bioethanol project from Sweet Sorghum in China and Italy (ECHIT): Description of 48 site, process schemes and main products. In: **12th European Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection, Amsterdam, The Netherlands**. p.17-21. 2002.

CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.; SILVIA TABACCHIONI, S.; DALMASTRI, C. Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. **Soil Biology and Biochemistry**, v.30, p.81-87, 1998.

CLEVELAND, C.C., TOWNSEND, A.R., SCHIMEL, D.S., FISHER, H., HOWARTH, R.W., HEDIN, L.O., PERAKIS, S.S., LATTY, E.F., VON FISCHER, J.C., ELSEROD, A., WASSON, N.F. Global 56 patterns of terrestrial biological nitrogen (N₂) fixation in natural ecosystems. **Global Biogeochemical Cycles**, v.13, p.623-645, 1999.

CLIMATE. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/location/43082/>>. Acesso em: 17 janeiro de 2018.

COMPANT, S., KAPLAN, H.; SESSITSCH, A.; NOWAK, J.; BARKA, E.A.; CLÉMENT. C. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN: from the rhizosphere to inflorescence tissues. **FEMS Microbiology Ecology**, v.63, p.84-93, 2008.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v.4, Safra 2016/17 - Décimo levantamento, Brasília, p.1-171, 2017.

CRUSCIOL, C.A.C.; GARCIA, R.A.; CASTRO, G.S.A.; ROSOLEM, C.A. Nitrate role in basic cation leaching under no-till. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p.1975-1984, 2011.

DA ROS, C.O., AITA, C., GIACOMINI, S.G. Volatilização de amônia com aplicação de uréia na superfície do solo, no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v.35, p.799-805, 2005.

DANTAS, E.F. Produção de biomassa, fixação biológica de nitrogênio e decomposição de adubos verdes em pomar de maracujá no agreste Pernambucano. **Dissertação (Mestrado)**. Recife, UFPE. 2014.

DIAS, P.F.; SOUTO, S.M.; RESENDE, A.S.; URQUIAGA, S.; ROCHA, G.P.; MOREIRA, J.F.; FRANCO, A.A. Transferência do N fixado por leguminosas arbóreas para o capim Survenola crescido em consórcio. **Ciência Rural**, v.37, p.352-356, 2007.

DINIZ, G. M. M. Produção de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench): aspectos gerais. **Dissertação (Mestrado)** Recife, UFRPE, 97p, 2010.

DÖBEREINER, J. A importância da Fixação Biológica do Nitrogênio para a Agricultura Sustentável. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.1, p.2-3, 1997.

DÖBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v.13, p.1-13, 1992.

DÖBEREINER, J., PEDROSA, F.O. Nitrogen-fixing bacteria in non-leguminous crop plants. **Science Tech**, 155p, 1987.

DÖBEREINER, J.; DAY, J.M. Associative symbioses in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON, W.E.; NYMAN, C. J., (Ed.). **Nitrogen fixation**. Pullman: Washington State University, v.2. p.518-538, 1976.

DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A.P. Uma nova espécie de *Beijerinckia*. **Revista de Biologia**, v.1, p.261-272, 1958.

DONATO, V.M.T.S.; ANDRADE, A.G.; SOUZA, E.S.; FRANÇA, J.G.E.; MACIEL, G.A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 39, p.1087-1093, 2004.

DUBOS, R. **Pasteur e a Ciência Moderna**. São Paulo, SP: Edart, 1967b.

DURÃES, F.O.M.; MAY, A.; PARRELLA, R.A.C. **Sistema Agroindustrial do Sorgo Sacarino no Brasil e a Participação Público-Privada: Oportunidades, Perspectivas e Desafios**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 76p, 2012.

EMBRAPA. Clima e água de chuva no Semiárido. In: BRITO, L.T.L.; MOURA, M.S.B.; GAMA, G.F.B. (Ed.). **Potencialidades da água de chuva no semiárido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido, p.37-59, 2007.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Fábio Cesar da Silva (Org.), 2ed. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 627p, il, 2009.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1), 2ed. Rio de Janeiro, 212p, il, 1997.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas** Londrina: Editora Planta. 2006.

ESPÍNDOLA, J.A.A.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L. de. **Adubação verde: Estratégia para uma agricultura sustentável**. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 42). Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 20p, 1997.

ESPINDOLA, J.A.A.; GUERRA, J.G.M.; PERIN, A.; TEIXEIRA, M.G.; ALMEIDA, D.L.; URQUIAGA, S.; BUSQUET, R.N.B.B. Bananeiras consorciadas com leguminosas herbáceas perenes utilizadas como coberturas vivas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.415-420, 2006.

FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. El sorgo y mijo en la nutrición. Roma: **FAO**, 197p. 1995.

FAO. FAOSTAT Production crops. Rome, 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>> Acesso em: 8 fev. 2018.

FERREIRA NETO, R.A.; FREITAS, A.D.S.; GIONGO V, CAMARGO P.B.; MENEZES R. S.C.; SAMPAIO E.V.S.B. Poaceae and leguminosae fixation in a green manure experiment in the Brazilian semiarid region. **Australian Journal of Crop Science**, v.11, p.1474-1480. 2017.

FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.D.; RAY, B.V.; ABREU, C.A.D. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura, Jaboticabal: **Potafos**, 600p, 2001.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J.L. **Manual da cultura do sorgo**. Jaboticabal: Funep, 2009.

FRANCO, A.A., DÖBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 20, p.68-74, 1994.

FREITAS, A.D.S.; SAMPAIO, E.V.S.B.; RAMOS, A.P.S.; BARBOSA, M.R.V.; LYRA, R.P.; ARAÚJO, E.L. Nitrogen isotopic patterns in tropical forests along a rainfall gradient in Northeast Brazil. **Plant and Soil**, v.391, p.109-122. 2015.

FREITAS, A.D.S.; SAMPAIO, E.V.S.B.; SANTOS, C.E.R.S. Abundância natural do ¹⁵N para quantificação da fixação biológica do nitrogênio em plantas. In: FIGUEIREDO, M.V.B., BURITY, H.M.; OLIVEIRA, J.P.; SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P. (Eds.), **Biotecnologia Aplicada à Agricultura - Textos de Apoio e Protocolos Experimentais**. Embrapa Informação Tecnológica; Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), Brasília, p.505-517, 2010b.

GARCIA, F.; MICUCCI, F.; RUBIO, G.; RUFFO, M.; DAVEREDE, I. Fertilización de forrajes em la región pampeana. Buenos Aires: **INPOFOS Cono Sur**, 61p, 2002.

GARCIA, R.G.; MENDES, A.A.; COSTA, C. PAZ, I.C.L.A.; TAKAHASHI, S.E.; PELÍCIA, K.P.; KOMIYAMA, C.M.; QUINTEIRO, R.R. Desempenho e qualidade da carne de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de sorgo em substituição ao milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.634-643, 2005.

HALLMANN, J. Plant interactions with endophytic bacteria. In: JEGER, M.J., SPENCE, N.J. Biotic interactions in plant-pathogen associations. Wallingford: **CABI Publishing**, 2001.

HARDOIM, P.R.; VAN OVERBEEK, L.S.; ELSAS, J.D.V. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, v.16, p.463-471, 2008.

HARPER, J.E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K.J.; BENNETT, J.M.; SINCLAIR, T.R., et al. **Physiology and determination of crop yield**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, Chapt.11A, p.285-302, 1994.

HÖGBERG, P., ¹⁵N natural abundance in soil-plant systems. **New Phytologist**, v.137, p.179-203, 1997.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, Documentos Embrapa Soja, 36p, 2011.

HUNGRIA, M., VARGAS, M.A.T., CAMPOS, R.J.A. **A inoculação da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSO, Circular Técnica, 17; Embrapa-CPAC. Circular Técnica, 34. 28p. 1997.

IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro, v.29, p.1-83. 2015.

JAMES, E.K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v.65, p.197-209, 2000.

JAMES, E.K.; GYANESHWAR, P.; MATHAN, N.; BARRAQUIO, W.L.; REDDY, P.M.; IANNETTA, P.P.; JAMES, E.K.; OLIVARES, F.L.; LADHA, J.K. Infection and colonization of rice seedlings by the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropodicae* Z67. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 15, n. 9, p. 894-906, 2002.

JAMES, E.K.; GYNESHWAR, P.; MATHAN, N.; BARRAQUIO, W.L.; REDDY, P.M.; IANNETTA, P.P.; JAMES, E.K., OLIVARES, F.L., BALDANI, J.I., DÖBEREINER, J. *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonizing vascular tissue 3 *Sorghum bicolor* L. Moench. **Journal of Experimental Botany**, v.48, p.785-798, 1997.

LANDAU, E. C.; SANS, L. M. A. **Clima na produção do sorgo**. 4.ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.

LANDAU, E. C.; SANS, L. M. A. Clima. In: RODRIGUES, J. A. S. (ed.). **Cultivo do sorgo**. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p.1-2, 2009.

LEDGARD, S.F. Transfer of fixed nitrogen from white clover to associated grasses in swards grazed by dairy cows, estimated using ^{15}N methods. **Plant and Soil**, v.131, p.215-223. 1991.

LIRA, M.A.; ARAÚJO, M.R.A.; MACIEL, G.A.; FREITAS, E.V.; ARCOVERDE, A.S.S.; LEIMING, G. Comportamento de novas progênes de sorgo forrageiro para o semiárido pernambucano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.23, p.1239-1246, 1986.

LOUARN, G.; PEREIRA-LOPÈS, E.; FUSTEC, J.; MARY, B.; VOISIN, A. S.; CARVALHO, P. C. F.; GASTAL, F. The amounts and dynamics of nitrogen transfer to grasses differ in alfalfa and white clover-based grass-legume mixtures as a result of rooting strategies and rhizodeposit quality. **Plant and Soil**, v.389, p.289-305, 2015.

LUNA, M.F.; GALAR, M.L.; APREA, J.; MOLINARI, M.L.; BOIARDI, J.L. Colonization of sorghum and wheat by seed inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Biotechnology Letters**, v.32, p.1071-1076, 2010.

MAGALHÃES, P.C.; OLIVEIRA, A.C. **Simulação de seca e seus efeitos na germinação de genótipos de sorgo**. Sete Lagoas: CNPMS-EMBRAPA, 4p, 1991.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F. O. M.; RODRIGUES, J. A. S. **Fisiologia da planta de Sorgo**. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 86), 2003. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/487527/1/Com86.pdf>. Acesso em: 08 de FEV 2018.

MAGALHÃES, R.T.; Gonçalves, L. C.; Borges, I.; Rodrigues, J. A. S.; Fonseca, J. F. **Produção e composição bromatológica de vinte e cinco genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ), v.62, p.747-751, 2010.

MARTINELLI, L.A.; OMETTO, J.P.H.B.; FERRAZ, E.S.; VICTORIA, R.L.; CAMARGO, P.B.; MOREIRA, M.Z. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**, 144p, 2009.

MATALLO JÚNIOR, H. **Indicadores de desertificação: Histórico e perspectivas**. Brasília, DF: UNESCO, 126p, 2001.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. International Potash Institute, 687p, 1987.

MIFLIN, B.J.; LEA, P.J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. **Phytochemistry**, v.15, p.873-885, 1976.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. Resolução nº 115, de 23 de novembro de 2017. Diário Oficial da União. Conselho Deliberativo da Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste – SUDENE, 2017. Disponível em: <<http://sudene.gov.br/images/arquivos/semiárido/arquivos/resolucao115-23112017-delimitacaodosemiárido-DOU.pdf>>. Acesso em: 03/06/2021.

MONTAÑEZ, A.; ABREU, C.; GILL, P.R.; HARDARSON, G.; SICARDI, M. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by ¹⁵N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. **Biology and Fertility of Soils**, v.45, p.253-263. 2009.

MORAIS, R.F.; QUESADA, D.M.; REIS, V.M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant and Soil**, v.349, p.1-12, 2012.

MOREIRA, F.M.S., SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2ª ed. UFLA, Lavras, 729p. 2006.

MOURA, M.S.B.; GALVINCIO, J.D.; BRITO, L.T.L.; SOUZA, L.S.B.; SÁ, I.I.S.; SILVA, T.G.F. Clima e água de chuva no semiárido. In: BRITO, L. T. de L.; MOURA, M. S. B. de; GAMA, G. F. B. (Ed.). **Potencialidades da água de chuva no semiárido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido, p.37-59, 2007.

NESSHEIM, L.; BOLLER, B.C. Nitrogen fixation by white clover when competing with grasses at moderately low temperatures. **Plant and Soil**, v.133, p.47-56, 1991.

OKON, Y.; FALLIK, E.; SARIG, S.; YAHALON, E.; TAL, S. Plant growth promoting effects of *Azospirillum*. In: BOTLE, H.; DE BRUIJN, F.J.; NEWTON, W.E. eds. **Nitrogen fixation: hundred years after**, p.741-748, 1988.

OLIVEIRA, A.L.M.; CANUTO, E.L.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v.284, p.23-32, 2006.

PACOVSKY, R. S. Development and growth effects in the Sorghum *Azospirillum* association. **Journal of Applied Microbiology**, v.68, p. 555-563, 1990.

PARTON, W.; SILVER, W.L.; BURKE, I.C.; GRASSENS, L.; HARMON, M.E.; CURRE, W.S.; KING, J.Y.; ADAIR, E.C.; BRANDT, L.A.; HART, S.C.; FASTH, B. Global scale similarities in nitrogen release patterns during long-term decomposition. **Science**, v.135, p.361-364, 2007.

PAULINO G.M; ALVES B.J.R; BARROSO D.G; URQUIAGA S.; ESPINDOLA J.A.A. Fixação biológica e transferência de nitrogênio por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e gravioleira, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1598-1607, 2009.

PEREIRA, J. A. R.; CAVALCANTE, V. A.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* spp. and *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, The Hague, v.110, n.2, p. 269-274, 1988.

PITTA, G.V.E.; VASCONCELLOS, C.A.; ALVES, V.M.C. **Fertilidade do solo e nutrição mineral do sorgo forrageiro**: produção e utilização de silagem de milho e sorgo. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p.243-262, 2001.

RASCHE, F.; LUEDERS, T.; SCHLOTTER, M.; SCHAEFER, S.; BUEGGER, F.; GATTINGER, A.; HOOD-NOWOTNY, R.C.; SESSITSCH, A. DNA-based stable isotope probing enables the identification of active bacterial endophytes in potatoes. **New Phytologist**, v.181, p.802-807, 2009.

REDDY, B.V.; RAMESH, S.; REDDY, P.S.; RAMAIAH, B.; SALIMATH, M.; KACHAPUR, R. Sweet sorghum-a potential alternate raw material for bio-ethanol and bio-energy. **International Sorghum and Millets Newsletter**, v.46, p.79-86, 2005.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Living inside plants: bacterial endophytes. **Current Opinion in Plant Biology**, v.14, p.435-443, 2011.

REIS, V.M. et al. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006.

RESENDE, A.S.; XAVIER, R.P.; QUESADA, D.M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Use of green manures in increasing inputs of biologically fixed nitrogen to sugar cane. **Biology and Fertility of Soils**, v.37, p.215-220, 2003.

RIBAS, P. M. **Sorgo**: introdução e importância econômica. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG, 2009.

RODRIGUES, J.A.S. **Cultivo do sorgo**. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de produção, 2), 2015. Disponível em: <<https://www.spo.cnpia.embrapa.br/>>. Acesso em: 08 fev. 2018.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v.17, p. 319-339, 1999.

RYLE, G.J.A.; POWELL, C.E.; GORDON, A.J. The respiratory costs of nitrogen fixation in soyabean, cowpea, and white clover. II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. **Journal of Experimental Botany**, v.30, p.145-153, 1979.

SÁ, I.B.; SILVA, P.C.G (Ed.). **Semiárido brasileiro**: pesquisa, desenvolvimento e inovação. Petrolina, Embrapa Semiárido, 2010.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H.; ARAÚJO, M.S.B.; MENEZES, R.S.C. **Agricultura sustentável no semiárido nordestino**. Recife: ed. Universitária UFPE, 152p, 2009.

- SAMPAIO, E.V.S.B.; TIESSEN, H.; ANTONINO, A.C.D.; SALCEDO, I.H. Residual N and P fertilizer effect and fertilizer recovery on intercropped and sole-cropped corn and beans in semiarid northeast Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v.70, p.1-11, 2004.
- SANTOS, C.L.R.; ALVES, G.C.; MACEDO, A.V.M.; GIORI F.G.; PEREIRA, W.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M. Contribution of a mixed inoculant containing strains of *Burkholderia* spp. and *Herbaspirillum* ssp. to the growth of three sorghum genotypes under increased nitrogen fertilization levels. **Applied Soil Ecology**, v.113 p.96-106, 2017.
- SHEARER, G.; KOHL, D H. Natural abundance of ^{15}N : fractional contribution of two sources to a common sink and use of isotope discrimination. In: KNOWLES, R.; BLACKBURN, T.H. Nitrogen isotope techniques. London: Academic Press, p.89-122, 1992.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N_2 -fixation in field settings: estimations based on natural ^{15}N abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.13, p.699-756, 1986.
- SILVA, D.F.; SILVA, A.M.A.; LIMA, A.B.; MELO, J.R.M. Exploração da Caatinga no Manejo Alimentar Sustentável de Pequenos Ruminantes. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA. **Anais...**, Belo Horizonte, 2004.
- SILVA, F.B.R.; SANTOS, J.C.P; SILVA, A.B. **Zoneamento agroecológico do Estado de Pernambuco - ZAPE**. Documentos, vol 35. Recife: Embrapa Solos - Unidade de Execução de Pesquisa e Desenvolvimento - UEP Recife; Governo do Estado de Pernambuco, CD-ROM, 2001.
- SUTTON, M.A.; VAN GRINSVEN, H. The European nitrogen problem in a global perspective, Nitrogen processes in terrestrial ecosystems. In: The European Nitrogen Assessment. Cambridge: **Cambridge University Press**. p.9-31 and 99-12, 2011.
- TABOSA, J.N. Cadernos do Semiárido: Riquezas & Oportunidades. v.15. Recife: **CREA-PE**: Editora UFRPE, 2020.
- TABOSA, J.N.; BARROS, A.H.C.; BRITO, A.R.M.B.; SIMPLÍCIO, J.B. Cultivo do sorgo no semiárido brasileiro: potencialidades e utilizações. In: **Tecnologias potenciais para uma agricultura sustentável**. Editores, MÁRCIA DO VALE BARRETO FIGUEIREDO et al. – Recife, PE: Instituto Agrônômico de Pernambuco IPA/Emater/Seagri-AL, 356p, 2013.
- TABOSA, J.N.; SIMPLÍCIO, J.B.; NASCIMENTO, M.M.A.; REIS, O.V.; SILVA, F.G.; LIMA, J.M. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes do semiárido nordestino. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 27., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPMS, 2008.
- TABOSA, J.N.; TAVARES FILHO J.J.; ARAÚJO, M.R.A.; ENCARNAÇÃO C.R.F.; BURITY, H.A. Water use efficiency in sorghum and corn cultivars under field conditions. **Sorghum Newsletter**, v.30, p.91-92. 1987.
- TAÍZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E.R. et al., 3° ed., Porto Alegre: Artemed, p.719. 2004.

TARRAND, J.J.; KRIEG, N.R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with description of a new genus, *Azospirillum* gen. nov., and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal Microbiology**, v24, p.967-980, 1978.

TAULÉ, C.; MAREQUE, C.; BARLOCCO, C.; HACKEMBRUCH, F.; REIS, V.M.; SICARDI, M.; BATTISTONI, F. The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. **Plant and Soil**, v.356, p.35-49, 2011.

TIEN, T. M.; DIEM, H. B. G; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant-growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979.

UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B.; CHALK, P. Measuring plant associated nitrogen fixation in agricultural systems. **ACIAR**, Canberra, 2008.

URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; OLIVEIRA, O. C. de; RESENDE, A. S. de; WEBER, H. **Efeito da queima, aplicação de N, irrigação e molibdênio na produção e acumulação de nitrogênio na cana de açúcar a longo prazo**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia (Documentos, 72), 13p, 1998.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; MORAIS, R.F.; BATISTA R.B.; SCHULTZ N.L.J.M.; MAIA, S.J.; BARBOSA, K.P.; RESENDE, A.S, ALVES B.J.R.; BODDEY R.M. Evidence from field nitrogen balance and ^{15}N natural abundance data for the contribution of biological N_2 fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, v.356, p.5-21, 2012.

VIDEIRA, S.S.; DE OLIVEIRA, D.M.; DE MORAIS, R.F.; BORGES, W.L.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. **Plant and Soil**, v.356, p.51-66, 2012.

VIEIRA, R.C.; MELLIS, E.V.; QUAGGIO, J.A.; TEIXEIRA, L.A.J.; CHIBA, M.K.; CANTARELLA, H. Doses e Formas de Aplicação de Molibdênio em Cana-de-Açúcar. In: XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2013, Florianópolis. **Anais...**, 2013.

VITOUSEK, P.M.; FARRINGTON, H. Nutrient limitation and soil development: experimental tests of a biogeochemical theory. **Biogeochemistry**, v.37, p.63-75, 1997.

WATANABE, I.; YONEYAMA, T.; PADRE, B.; LADHA, J.K. Difference in natural abundance of ^{15}N in several rice (*Oriza sativa* L.) varieties: Application for evaluating N_2 fixation. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.33, p.407-415, 1987.

WHITHEAD, D.C. Grassland nitrogen. Wallingford: **CAB international**. 1995.

XIMENES, L.F.; SILVA, M.S.L.; BRITO, L.T.L.B. **Tecnologias de convivência com o semiárido brasileiro**. - Fortaleza, CE: Banco do Nordeste do Brasil, 1138p, 2019.